Untersuchungen über die Fertilität Dysgammaglobulinämischer Hähne der UM B19-Linie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Lieselotte Hannesschläger
aus
Wuppertal

München 1984

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker
Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. U. Lösch

Untersuchungen über die Fertilität Dysgammaglobulinämischer Hähne der UM B19-Linie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Lieselotte Hannesschläger
aus
Wuppertal

München 1984

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan:	Prof. Dr. W. Leidl
Referent:	Prof. Dr. U. Lösch
Korreferent:	Prof. Dr. W. Rössner
Tag der Promotion:	27. Juli 1984

Druck: Gather Sofortdruck Bonn

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
2.	Literatur	4
2.1.	Anatomie und Histologie der Geschlechtsorgane des Hahnes	4
2.2.	Spermatogenese	5
2.2.1.	Ort der Spermatogenese	5
2.2.2.	Dauer der Spermatogenese	6
2.2.3.	Morphologie des Spermiums	7
2.2.4.	Zusammensetzung des Ejakulats	7
2.3.	Immunologie	8
2.4.	Hormone	11
2.4.1.	Testosteron	11
2.4.1.1.	Synthese des Testosterons	11
2.4.1.2.	Ort der Testosteronsynthese	13
2.4.1.3.	Testosteronkonzentration im Blutplasma und Rhythmizität	13
2.4.1.4.	Wirkungsweise von Androgenen, insbesondere Testosteron	16
2.4.2.	Luteinisierungshormon, LH und follikelstimmulierendes Hormon FSH	20
2.4.2.1.	Struktur und Wirksamkeit von Gonadotropinen beim Vogel	20
2.4.2.2.	Ort der Gonadotropinsynthese	21
2.4.2.3.	LH-Konzentration im Blut und Rhythmizität	21
2.4.2.4.	Wirkungsweise von LH und FSH	23
2.4.3.	Gonadotropin Releasing Factor (GnRF) und synthetisches Luteinisierungshormon Releasing Hormon (LHRH)	24
2.4.3.1.	Struktur und Wirksamkeit von GnRF und LHRH	24
2.4.3.2.	Lokalisation von GnRF	25
2.4.3.3.	Wirkungsweise des GnRF	25
2.5.	Verhalten	26
3.	Material und Methoden	26
3.1.1.	Tiermaterial	28
3.1.2.	Haltung	28
3.2.	Messen und Wiegen der Hoden	28
3.3.	Histologische Präparate	29
3.4.	Spermauntersuchung	29

3.4.1.	Spermagewinnung	29
3.4.2.	Volumen	30
3.4.3.	Konsistenz, Farbe und pH-Wert	30
3.4.4.	Motilität	30
3.4.5.	Lebend- Tot- Färbung	30
3.4.6.	Morphologie	31
3.4.7.	Dichte	32
3.5.	Hormonbestimmung	32
3.5.1.	Serum	32
3.5.2.	Testosteronbestimmung	32
3.5.3.	LH-Bestimmung	33
3.5.4.	Testosteron-Tagesverlauf	33
3.5.5.	LH-Schwankungen	33
3.5.6.	Stimulation der Hypophyse durch LHRH	33
3.5.7.	Effekt von LHRH-Gaben bei Applikation in 14-tägigen Abständen	34
3.5.8.	Effekt von LHRH-Gaben bei täglicher Applikation	34
3.6.	Verhalten	35
4.	Ergebnisse	36
4.1.	Messen und Wiegen der Hoden	36
4.2.	Spermauntersuchung	39
4.3.	Testosteron- Tageverlauf	41
4.4.	Testosteron- Konzentration nach LHRH-Verabreichung	43
4.5.	Spermadichte nach LHRH-Verabreichung	46
4.6.	Serum- Testosteronverlauf und Dichte nach LHRH-Verabreichung in zweiwöchigen Abständen	49
4.7.	Serum- Testosteronkonzentrationen vor und nach 14-tägiger Behandlung mit 2 ug LHRH	55
4.8.	Tagesverlauf der Serum- LH- Konzentrationen von dysgammablobulinämischen Hähnen	60
4.9.	Verhalten	65
5.	Diskussion	66
6.	Zusammenfassung	80
7.	Summary	81
8.	Literaturverzeichnis	82

1. Einleitung

Die Tiere der UM B19-Linie, die Gegenstand der vorliegenden Arbeit sind, zeichnen sich dadurch aus, daß sie sowohl eine dysgammaglobulinämische als auch eine normogammaglobulinämische Nachzucht erbringen. Die Zuchtbemühungen sind darauf ausgerichtet, eine vorwiegend dysgammaglobulinämische Linie zu erzielen.

Die 1965 in der Universität München begonnene Zucht ist auf vier Tiere zurückzuführen: den Leghornhybridhahn 594 mit einem erniedrigten IgG- und erhöhten IgM-Spiegel und den Broilerhybridhahn White Rock/Cornish 402 mit erniedrigtem IgG- und erhöhtem IgM-Spiegel. Dazu kamen die Leghornhybridhenne 3551 mit gleichem Ig-Muster wie der Hahn 594 und die immunologisch unauffällige Leghornhybridhenne 672, deren Nachkommenschaft aus Anpaarung an Hahn 594 dysgammaglobulinämisch war.

In der Folgezeit war das einzige Kriterium für eine Zuchtverwendung der Nachkommenschaft dieser Tiere eine festgestellte Dysgammaglobulinämie. Jedoch mußten zur Erhaltung des Bestandes der UM B19-Linie wiederholt auch Tiere zur Zucht eingesetzt werden, die nur transitorisch dysgammaglobulinämisch waren und deren Immunglobulinspiegel sich zwischen dem vierten und zwölften Lebensmonat normalisierte (FIEDLER et al. 1980).

Eine vergleichende Auswertung der Zuchtprotokolle ergab, daß von 1967 bis 1971 aus Paarungen von 16 Hähnen und 45 Hennen - sämtliche Tiere mit Symptomen der Dysgammaglobulinämie - 380 Nachkommen bis zur vierten Lebenswoche überlebten. Diese Überlebensrate entspricht 16% im Verhältnis zu im Untersuchungszeitraum insgesamt (100%) gelegten 2333 Eiern, von denen aus 44% (1032) befruchteten insgesamt 505 (22%) Küken schlüpften. Die Schwierigkeit, bei bestehender Dysgammaglobulinämie eine derartige Zuchtlinie zu erhalten, zeigt deutlich der Vergleich mit unter denselben Bedingungen gehaltenen Leghorn/Broiler-Tie-

ren. Hier überlebten 72% der Nachkommenschaft bis zur 4. Woche; von 318 (100%) gelegten Eiern waren 86% (274) befruchtet, 74% (235) wurden ausgebrütet (FIEDLER et al., 1980). Ähnlich positiv unterscheiden sich auch die Ergebnisse anderer Rassen bei unterschiedlichen Kombinationen Hahn:Henne.

> Bei Anpaarung von White Cornish-Hähnen an White Rock-Hennen bei einem Hahn:Hennen-Verhältnis von 1:10 wurden 65% der Eier befruchtet; bei Anpaarung von White Plymouth Rock-Hähnen an White Cornish-Hennen bei gleichem Geschlechtsverhältnis 75,4%. Bei künstlicher Besamung erbrachten beide Kombinationen vergleichbare Ergebnisse (SOLLER et al., 1965).
> Weiße Leghornhähne hatten bei einem Hahn:Hennen-Verhältnis von 3:44 eine Befruchtungsrate von 90%, bei einem Verhältnis von 1:44 eine Rate von 81%-83% (BRANTAS et al., 1972).

Ein sehr niedriges Befruchtungsergebnis der Hähne der UM B19-Linie blieb von Beginn der Zucht an eine typische Eigenschaft dieser Tiere. Trotz vorhandenen Balzverhaltens zeigt die Mehrzahl kein Paarungsverhalten.
Selbst die wenigen Ausnahmen von dieser Regel verlieren ihr Paarungsverhalten im Alter von ungefähr zwölf Monaten. In der Hoffnung, bessere Befruchtungsergebnisse zu erzielen, wurde um die Jahreswende 1982/83 auf künstliche Besamung umgestellt.
Die Ergebnisse aus der Zeit von 08. - 12.82 bis 11.07.83 entstanden aus einem Hahn:Hennen-Verhältnis von 1:1 bis 1:3.
Dabei wurden dys- und normogammaglobulinämische Hähne unter konventionellen Bedingungen und bei künstlicher Besamung verglichen.
Die Fertilitätsraten bei künstlicher Besamung liegen bei dysgammaglobulinämischen Hähnen nur um 2% niedriger als bei normogammaglobulinämischen UM B19-Hähnen und zeigen damit nicht so große Unterschiede wie bei vorhergehenden Vergleichen.
Dies dürfte im Wesentlichen darauf zurückzuführen sein, daß auch Befruchtungsergebnisse von solchen normogammaglobulinä-

mischen Hähnen berücksichtigt wurden, die aus Paarungen dysgammaglobulinämischer Eltern stammten.
Künstliche Besamung steigerte bei den dysgammaglobulinämischen Hähnen die Befruchtungsrate zwar von 21,8% auf 36,7%; diese Rate liegt aber immer noch deutlich unter den in der Literatur angegebenen Normwerten.
Ursachen dieser mangelhaften Fertilität der Hähne der UM B19-Linie zu charakterisieren und einen Behandlungsversuch durchzuführen war die Aufgabe, mit der sich die vorliegende Arbeit befasst.

2. Literatur

2.1. Anatomie und Histologie der Geschlechtsorgane des Hahnes

Die eiförmigen Hoden liegen dorsal in der Leibeshöhle unter der Wirbelsäule zwischen Lunge und Niere. Medial stehen sie in engem Kontakt mit der Aorta abdominalis und der Vena cava caudalis.
Nieren- und Hodenarterie entspringen gemeinsam aus der Aorta. Nicht immer ist eine akzessorische Hodenarterie vorhanden, die direkt aus der Aorta entspringt. Die Hodenarterie ist sehr kurz und verläuft in dem ebenfalls sehr kurzen Gekröse, mit dem die Hoden an der dorsalen Leibeswand befestigt sind.
Von dort verästelt sich die Arterie und bildet zwischen den Hodenkanälchen Schlingen.
Die venöse Drainage erfolgt über oberflächlich liegende Venen, die sich vereinen und zur Vena cava caudalis laufen.
Der Hoden wird außen von der Tunica albuginea umschlossen. Von dort aus strahlen feine Bindegewebszüge in das Organ ein, ohne daß es zu einer Septenbildung kommt.
Im interstitiellen Bindegewebe befinden sich die Leydigschen Zwischenzellen und die Hodenkanälchen, Tubuli seminiferi contorti.
Den Tubuli seminiferi contorti liegt außen eine dünne, aus kollagenen Fibrillen bestehende Grenzhaut, die Tunica propria, auf. Darunter folgt die Basalmembran, der sich lumenwärts das Keimepithel anschließt, das aus Sertolischen Fußzellen und Keimzellen besteht.
Das Gewicht der Gonaden beträgt beim ausgewachsenen Hahn 1% des Körpergewichts (PARKER, 1949). Je nach Rasse sind das 14-60 g.
Die Länge beträgt 35 - 60 mm, die Breite 25 - 30 mm, in der Ruheperiode, die der Mauser entspricht, 10 - 19 und 5 - 10 mm.
Im Gewebe, das Hoden und Körperwand verbindet, liegt ein Kanalsystem mit einem flachkubischen Epithel, das dem Rete testis

der Säuger entspricht. Daraus gehen die Ductuli efferentes, deren Wand eine aus mehrschichtigem Epithel bestehende gefältelte Mucosa bildet, hervor. Sie vereinigen sich und münden an mehreren Stellen in den Ductus epididymidis.
Diese drei Strukturen d.h. Rete testis, Ductuli efferentes und Ductus epididymidis bilden die Grundlage des dorsomedial gelegenen von der Größe her unbedeutenden Nebenhoden Epididymis. Aus diesem geht der lange, geschlängelte Samenleiter, Ductus deferens ohne deutliche Grenze hervor und mündet auf einer Papille im mittleren Abschnitt der Kloake, dem Urodaeum.
Der beim Hahn rudimentäre Penis besteht aus einem medialen Colliculus und zwei paramedianen Falten, Crura phalli die eine mittlere Rinne begrenzen. Lymphflüssigkeit aus den zwei lateral gelegenen Lymphfalten an den erweiterten Endabschnitten der Samenleiter bedingt die Erektion, die zusammen mit der Ausstülpung des Proktodaeums die Funktion der Samenübertragung übernimmt. Diese Lymphflüssigkeit, die aus einem unter der Kloakenschleimhaut gelegenen etwa erbsengroßen Lymphbildungsorgan, Lymphobulbus, stammt, tritt auch durch die Falten und wird dem Sperma beigemischt (BUDRAS, et al., 1978). Akzessorische Geschlechtsdrüsen fehlen dem Vogel (LAKE, 1971; SCHUMMER, 1973; STURKIE, 1976).

2.2. Spermatogenese

2.2.1. Ort der Spermatogenese

Die Spermatogenese findet in den Tubuli seminiferi contorti statt.
Das Germinalepithel besteht aus vielen Zellagen, die die verschiedenen Stadien der Spermatogenese repräsentieren.
An der Basalmembran sitzen die Spermatogonien, die einen kugeligen, chromatinreichen Kern haben. Aus einer Spermatogonie gehen durch Äquationsteilung zwei Zellen hervor: eine weitere Spermatogonie und eine Spermatozyte erster Ordnung. Die Sperma-

togonie wächst zu einer großen Zelle mit locker strukturiertem Zellkern heran, wobei die Chromosomenkonjugation stattfindet. Dann durchgeht die Zelle die erste Reifeteilung (Meiose) wodurch zwei Tochterzellen, die Spermatozyten mit haploidem Chromosomensatz entstehen.
Durch die folgende zweite Reifeteilung entstehen zwei Spermatiden.
Diese nehmen mit dem apikalen Ende der Sertolischen Fußzellen Kontakt auf und treten in den Prozess der Spermiohistogenese, der Transformation zu Spermien ein.
Die reifen Spermien werden hauptsächlich im Ductus deferens gespeichert.

2.2.2. Dauer der Spermatogenese

In den ersten fünf Lebenswochen erfolgt die Organisation der Tubuli und die Vermehrung der Spermatogonien.
Primäre Spermatozyten treten in der sechsten Lebenswoche auf, sekundäre Spermatozyten ab der zehnten Woche. Mit zwanzig Wochen sind in allen Tubuli Spermatiden zu finden (KUMARAN and TURNER, 1949a, b; BLIVAISS, 1947)

Nach Injektion von ^{3}H-Thymidin bei weißen Leghornhähnen ergab sich nach abgeschlossener Ausreifung der Spermatogenesezellen eine Dauer der Spermatogenese von zwölf bis sechzehn Tagen.

- Die Dauer der Spermatogenese, nachdem sie etabliert ist, wurde bei weißen Leghornhähnen durch Injektion von ^{3}H-Thymidin festgestellt. Die Spermatogenesedauer beträgt sechs Tage. Erste ^{3}H-Thymidin-markierte Spermien erscheinen zwölf Tage post injectionem in den Tubuli. Im Ejakulat sind sie nach zwölf bis fünfzehn Tagen nachweisbar (REVIERS DE MAUNY, 1968).

- Ähnliche Ergebnisse fand TAKEDA (1969) mittels $^{32}PO_4$ -Markierung. Der kürzeste Zeitraum für die Transformation vom Stadium der primären Spermatozyte zum Spermium beträgt zwölf, der Transport durch den Ductus deferens weitere vier Tage.

2.2.3. Morphologie des Spermiums

Das Spermium des Hahnes hat eine fadenförmige Gestalt. Der langgestreckte Kopf geht nahezu übergangslos in den Schwanz über.
Das Volumen beträgt 9,2 μm^3, die Gesamtlänge bis 100 µm. Dabei entfallen auf das konische Akrosom 1,75, auf den zylindrischen Kopf 12,5, auf das Mittelstück 4 und das Hauptstück des Schwanzes 80 µm (LAKE et al. 1968; LAKE, 1971).
Dem Vogelspermium fehlt beim Verlassen der Tubuli das beim Säuger vorhandene Protoplasmatröpfchen.

Das Akrosom besteht aus dem im vorderen Teil des Kopfes verankertem Perforatorium und ist von der Kopfkappe bedeckt. Es entspringt aus den Vesikeln des Golgi-Apparates des Spermatiden. Die proximale Zentriole bildet die Basalplatte. Das Mittelstück des Schwanzes enthält die zylindrische distale Zentriole, um die etwa 30 gekrümmte plattenförmige Mitochondrien angeordnet sind. Von dort aus strahlen zwei Zentral- und neun äußere Doppelfibrillen in das Hauptstück des Schwanzes ein. Die neun äußeren Longitudenalfibrillen des Säugers sind beim Vogelspermium nicht vorhanden (LAKE et al, 1968).

2.2.4. Zusammensetzung des Ejakulats

Das Volumen des Ejakulats beträgt zwischen 0,11 ml, in der Kloake der Henne gemessen, bis zu 1 ml bei Spermagewinnung direkt vom Hahn (PARKER, 1949). Es besteht offenbar eine Rassenabhängigkeit. So wird für schwere Legerassen 0,5 - 1,0 ml

als Durchschnittswert angegeben, für leichte Legerassen 0,2 - 0,7 ml (PAUFLER, 1974).
Auch die Anzahl der Spermien pro mm³ variiert stark zwischen schnell und langsam wachsenden Rassen, 2,3 Millionen Spermien /mm³ bei schnellwüchsigen, 4,9 Millionen/mm³ bei langsam wachsenden (MARINI and GOODMAN, 1969). PARKER (1949) gibt einen Mittelwert von 3,5 Millionen an.
Für optimale Fruchtbarkeit nach künstlicher Besamung sind nach PARKER et al. (1942) mindestens 100 Millionen Spermien notwendig, nach NISHIYAMA et al. (1968) 70 Millionen.
Außer durch rassebedingte Unterschiede werden Volumen und Dichte des Ejakulats auch von anderen Faktoren beeinflußt.
So sollen saisonale Einflüsse eine Rolle spielen; Volumen und Dichte steigen im Zeitraum Dezember bis April. Ein Tiefpunkt, auch hinsichtlich der Fruchtbarkeit, soll im Juli und August erreicht werden (STURKIE, 1976).
Die Qualität des Ejakulats ist auch vom Alter der Tiere abhängig.
Ejakulate guter Qualität sind ab sechs bis acht Monaten zu erwarten (LAKE, 1974). Mit dem zweiten bis dritten Lebensjahr sinkt die Fertilität (STURKIE, 1976).
Das Samenplasma besteht aus der Lymphflüssigkeit, die in ihrer Zusammensetzung einem Blut-Dialysat entspricht und aus dem Sekret des Ductus deferens und der Hodenkanälchen.

2.3. Immunologie

Während der ersten Reifeteilung erscheinen auf den Spermatozyten erster Ordnung spezifische Oberflächenantigene, wodurch diese in immunologischer Hinsicht zu körpereigenen Fremdzellen werden. Das hieraus resultierende Problem der immunologischen Abwehr ist im Hoden durch die Bildung einer Blut-Hoden-Schranke (spezialisierte inter-Sertoli-cell-occluding junctions) gelöst.

Bei einer Zerstörung dieser Schranke kommt es zum Untergang der Keimzellen (Autoimmunorchitis; WALLENBURG und PLOEN, 1972).

Von den zur Identifikation der Blut-Hoden-Schranke dienenden Tracern wird der Durchtritt von Ferritin und Peroxydase beim Säuger von 2 nm großen "gap-junctions" verhindert. Lanthannitrat passiert diese und wird erst von "tight-junctions" aufgehalten (DYM and FAWCETT, 1970).
Hoden von geschlechtsreifen weißen Leghornhähnen wurden durch vaskuläre Perfusion durch die Aorta thoracica fixiert und mit Lanthannitrat perfundiert.
Dabei wurden 5 Typen von Sertoli-Sertoli und Sertoli-Spermatogenesezellen-Kontakten gefunden:

1. "Focal tight junctions": Sie liegen oberhalb der Spermatogonien und verbinden aneinandergrenzende schmale zytoplasmatische Fortsätze von Sertolizellen.

2. "Desmosome-like devices". Diese treten seltener und weniger deutlich zwischen zwei Sertolizellen oder zwischen Sertolizellen und Spermatogonien auf; häufiger zwischen Sertolizellen und späteren Formen von Spermatozyten und Spermatiden. Sie unterteilen sich in drei Subtypen A,B,C, die möglicherweise verschiedene Entwicklungsstadien dieser Form der Zelloberflächenspezialisierung darstellen.

3. Ein dritter Typ ist durch elektronenmikroskopisch dichtes Material in ausgedehnten Flächen der Interzellularräume charakterisiert.
   Diese Verbindung tritt meist zwischen Sertolizellen und Spermatogonien oder neugeformten Spermatozyten auf, seltener zwischen zwei Sertolizellen, oder Sertolizelle und Spermatozyte/Spermatide.

4. Der vierte nicht so häufig vorkommende Typ, der durch eine lange und dilatierte Zisterne des endoplasmatischen Retikulums, sehr nahe an der Plasmamembran gekennzeichnet wird, befindet sich zwischen zwei Sertolizellen.

5. Es bestehen auch Kontakte zwischen der Akrosomgegend der Spermatiden und Sertolizellen, wobei eine leichte Kondensation von filamentösem Material unter der Oberfläche der Sertolizelle liegt.

Lanthanablagerungen befinden sich hauptsächlich in den intertubulären Blutgefäßen. Sehr wenig Lanthan tritt in die interzellulären Räume zwischen Sertolizellen und Spermatogonien, wobei es die Spermatogonien völlig umgibt und oberhalb dieser Zellen aufgehalten wird. In manchen Fällen werden auch neugebildete Spermatozyten von Lanthan umgeben.
Nach Injektion von Lanthan in das Lumen der Samenkanälchen erreicht es das Epithel bis in die Interzellulärspalten zwischen Sertolizellen und Spermatiden/Spermatozyten.
Der Hauptunterschied zwischen Säuger und Geflügel liegt in der Struktur der inter-Sertoli-cell-junctions und der Verbindung zwischen rostralem Teil des Spermatiden und Sertolizelle.
Trotzdem zeigt Lanthan beim Hahn dieselbe Verteilung wie im Hoden des Säugers.
Es ist nicht bewiesen, ob diese durch den Lanthantracer markierte morphologische Barriere auch eine physiologische oder/und immunologische Barriere darstellt (OSMAN et al, 1980).

Nachgewiesen wurde, daß nach intrakloakaler Inokulation mit nicht inaktivierter Hitchner-B1-Vakzine bei Eintagsküken Antikörper transepithelial mit der Lymphflüssigkeit in das Kloakenlumen gelangen. Die "transparente Flüssigkeit" fließt der Spermaphase nach. Die beiden Komponenten vermischen sich erst im Ovidukt der Henne (RAUTENFELD et al., 1978).

2.4. Hormone

2.4.1. Testosteron

Neben Spermien werden im Hoden Hormone synthetisiert, die neben anderen Stoffwechseleffekten die Funktion akzessorischer Geschlechtsorgane regulieren und eine Kontrollfunktion beim Paarungsverhalten haben.

- Die wichtigsten Hormone des Hodens sind die Androgene, wobei Testosteron die bedeutendste Rolle spielt.
- Neben Androgenen kommen auch Gestagene und Oestrogene vor, es ist aber nicht nachgewiesen worden, ob diese auch in das zirkulierende Blut abgegeben werden.

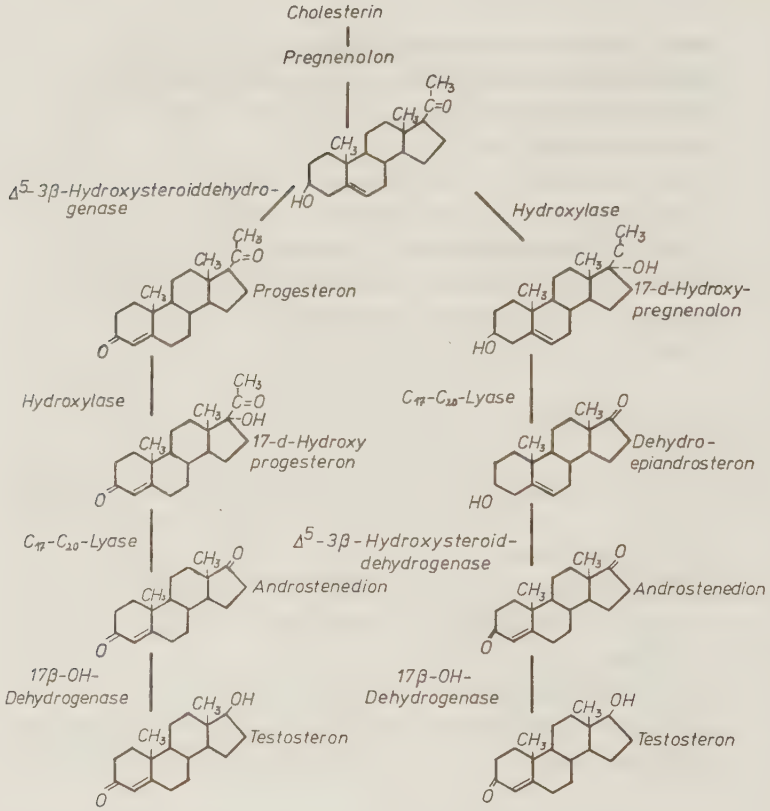
2.4.1.1. Synthese des Testosterons

Es gibt beim Vogel zwei Synthesewege für Testosteron (s.Abb.1).

- Alle Zwischenstufen, die in diesen 2 Wegen entstehen, werden im Hoden des Vogels nachgewiesenermaßen produziert. (LAKE and FURR, 1971; NAKAMURA and TANABE, 1972; GALLI et al., 1973; GUICHARD et al., 1973 a,b)
- Die steroidmetabolisierenden Enzyme sind durch chemische und histochemische Methoden identifiziert (LAKE and FURR, 1971; NAKAMURA and TANABE, 1972; LOFTS and MURTON, 1973). (Abb.1)

  In vitro synthetisieren embryonale Gonaden vom 7. Tag an Testosteron am effizientesten über den Delta5 - 3Beta -Hydroxysteroiddehydrogenase-Weg (GUICHARD et al., 1973 a; GALLI et al., 1973).

Abb. 1 Synthesewege von Testosteron



2.4.1.2. Ort der Testosteronsynthese

Ort der Androgensynthese ist wahrscheinlich die Leydigsche Zwischenzelle. Dafür spricht, daß in diesen Zellen das Enzym Delta5 -3Beta-Hydroxysteroiddehydrogenase - das Pregnenolon zu Progesteron und Dehydroepiandrosteron zu Androstenedion umwandelt - vorhanden ist (WOODS and DOMM, 1966).

- Bei der Wachtel durchgehen die Leydigschen Zwischenzellen innerhalb von drei Tagen nach Photostimulation, die die LH- und damit die Testosteronausschüttung fördert, eine Metamorphose vom nicht-sekretorischen zum sekretorischen Zustand (NICHOLLS and GRAHAM, 1972).
- Mit Beginn des jährlichen Fortpflanzungszyklus nimmt bei der Pekingente und beim Star die Größe der Leydigschen Zwischenzellen parallel mit der Erhöhung der Plasmatestosteronkonzentration zu (GARNIER and ATTAL, 1970; GARNIER, 1971; TEMPLE, 1974).
- Die Sertolizellen und die epitheliale Auskleidung des Hodens enthalten ebenfalls Androgen metabolisierende Enzyme (LOFTS and BERN, 1972; LOFTS and MURTON, 1973; TINGARI, 1973). Entweder produzieren diese Zellen auch Androgene, oder ihr Metabolismus ist die Funktion einer Steroidutilisation.

2.4.1.3. Testosteronkonzentration im Blutplasma und Rhythmizität

DRIOT et al. (1979) führten häufige Plasma-Testosteronbestimmungen mittels Radioimmunoassay bei Hähnen einer leichten Legelinie "M 55" zwischen 2. und 26. Lebenswoche durch.
Dabei wurden drei Phasen in Bezug auf die Testosteronkonzentration unterschieden:

- Die als "stationäre Phase" bezeichnete Zeitspanne zwischen 2. und 12. Woche, in der die mittlere Plasma-Testosteronkonzentration 320 pg/ml beträgt.

- Darauf folgt die "Zunahmephase" zwischen 12. und 22. Woche, in der sich die Testosteronkonzentration unter starken Fluktuationen um ungefähr das Zehnfache erhöht.
- In der "adulten Phase", ab der 23. Woche, liegt die Testosteronkonzentration bei einem Mittelwert von 2500 pg/ml, wobei auch hier deutliche Schwankungen um diesen Wert auftreten.

Bei der untersuchten Linie erfolgt der Anstieg des Testosteronspiegels einige Wochen vor Beginn der Spermaproduktion, die mit 16 Wochen einsetzt.

Der Testosteronanstieg wird damit erklärt, daß in dieser Reifungsphase der hypothalamo-hypophysäre Komplex sukzessiv eine geringere Sensibilität des "negative-feedback-systems" gegenüber Testosteron entwickelt. Das wird auch dadurch demonstriert, daß in späteren Phasen der sexuellen Reifung zunehmend höhere Dosen Testosteronpropionat nötig sind, um die LH-Sekretion zu hemmen (WILSON, 1979).

Vergleichbare Werte wurden mit einer "competitive-protein-binding"-Methode und Dünnschichtchromotographie bei weißen Leghorn-Hähnen gefunden. 5 Monate alte Tiere haben eine durchschnittliche Testosteronkonzentration von 1200 pg/ml, 1-2 Jahre alte Hähne von 2400 pg/ml (SCHRÖCKSNADEL et al., 1971)

CULBERT et al. (1977) führten Testosteronbestimmungen mit Radioimmunoassay bei einer mittelschweren Linie "Thornber 909" in 4-wöchigen Abständen zwischen der 9. und 44. Lebenswoche durch. Dabei ergaben sich folgende mittlere Konzentrationen: In der 9. bis 16. Woche von 1,6 bis 2,5 ng/ml; nach Beginn der Spermatogenese in der 17. bis 23. Woche 1,5 bis 9,5 ng/ml; mit Beginn der Spermaproduktion von der 24. bis 44. Woche 3,4 bis 9,3 ng/ml.

Eine signifikante Erhöhung findet in der 22. - 23. Woche statt. Die Spermatogenese beginnt bei dieser Linie mit 16 Wochen, die Spermaproduktion mit 24 Wochen. Hier fallen in der 22. Woche Testosteronanstieg und Beginn der Spermaproduktion zusammen. Offenbar scheint die Reifung der Gonaden nach Beginn der Spermaproduktion mit 24 Wochen noch 12 Wochen anzudauern, da

der Testosteronspiegel noch weiter steigt, und sich erst nach 37 bis 38 Wochen stabilsiert.

In dieser Untersuchung wurde auch die Androstenedionkonzentration gemessen. Dabei zeigte sich, daß die Plasma-Androstenedionkonzentration beim juvenilen Hahn bis zur ca. 10. Woche höher ist als die des Testosterons. Beim adulten Tier beträgt sie nur noch die Hälfte der Testosteronkonzentration.

Im Hoden fällt Androstenedion in der 10. Woche ab. Dies spricht für eine mit der Reifung der Gonaden und des Enzymsystems im Zusammenhang stehende Änderung des Steroidmusters 6 Wochen vor Beginn des raschen Hodenwachstums mit 16 Wochen.

SCHANBACHER et al. (1974) untersuchten die Testosteronkonzentrationen bei Zwerg-Leghorn-Hähnen mit Hilfe eines Radioimmunoassays. Bei diesen, im 14-Stunden-Licht-Rhythmus gehaltenen Tieren wurde in dreistündigen Abständen Blut für die Testosteronbestimmung genommen.

Die Serum-Testosteronwerte betragen in der Tag-Phase zwischen 9.00 und 18.00 Uhr 7,14 $\pm$ 0,55 ng/ml, in der Nacht-Phase zwischen 21.00 und 6.00 Uhr 9,42 $\pm$ 0,73 ng/ml. Hier besteht eine Tag-Nacht-Rhythmizität.

Bei der Wachtel wurde das Phänomen der kurzzeitigen Variation von Testosteron im Serum genauer untersucht.

Testosteron wurde mit Radioimmunoassay in Blutproben bestimmt, die bei 2, 8 und 9 Monate alten Tieren in 15-Minuten-Abständen gewonnen worden waren. Dabei wurde jeder Wert zu den einzelnen Zeitpunkten bei 3 bis 6 Tieren ermittelt, die bei der Blutentnahme getötet wurden, so daß die einzelnen Durchschnittswerte von einer recht großen Anzahl von - jedoch nicht identischen Tieren stammen.

Ein geringer Testosteronanstieg findet um 13.45 Uhr statt. Um 2.00 Uhr erhöht sich der Testosteronspiegel um 240% gegenüber dem zuvor gemessenen Wert.

Bei Messungen zwischen 16.45 Uhr und 20.00 Uhr ist ein Anstieg von 355% um 17.30 Uhr mit darauf folgendem Abfall, und

um 19.30 Uhr von 182% festzustellen.
Diese Messung wurde 7 Monate später zwischen 16.45 Uhr und 19.15 Uhr wiederholt.
Peaks fanden sich um 16.45 Uhr, 17.45 Uhr und 18.00 Uhr mit Anstiegen zwischen 138% und 500% gegenüber den vorhergehenden Werten.
Tiefpunkte lagen bei 17.00 Uhr und 19.15 Uhr.
Bei den 2 Monate alten Tieren waren die erhobenen Daten sehr variabel und zeigten kein vorhersehbares zeitabhängiges Muster.
Auch die Hodengröße dieser äußerlich funktionell reif erscheinenden Tiere war variabel. Daraus wird der Schluß gezogen, daß hier die volle Funktionsfähigkeit der Gonaden und die daraus resultierende Testosteronsekretion noch nicht stabilisiert ist.

Bei den 8 und 9 Monate alten Tieren variiert zwar die Testosteronkonzentration zwischen den einzelnen Individuen; es besteht aber ein ähnliches gemeinsames diurnales Sekretionsmuster innerhalb der Population (OTTINGER; 1983).

2.4.1.4. Wirkungsweise von Androgenen, insbesondere Testosteron

Testosteron hat beim Vogel mehrere Wirkungen.
Eine seiner Funktionen ist die Kontrolle der hypothalamo-hypophysären Hormonausschüttung:

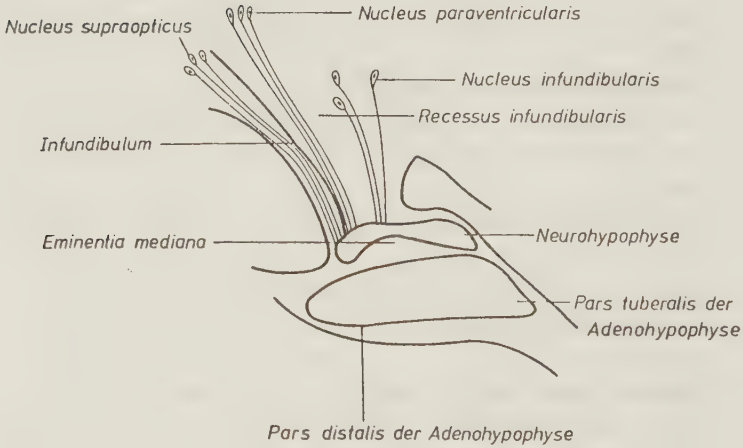
- an der Hypophyse wirkt es direkt auf die Gonadotropine durch Hemmung oder Förderung der stimulatorischen Wirkung von Gonadotropin-Releasing-Factor GnRF
- am Hypothalamus reguliert es möglicherweise die Aktivität der GnRF-Neuronen und damit im Hypophysenvorderlappen die Gonadotropinsekretion (SHARP, 1983).
- es wirkt als Derepressor
- Testosteronimplantate in der Adenohypophyse induzieren eine

testikuläre Regression bei der Wachtel (STETSON, 1972) und hemmen photoperiodisch induziertes testikuläres Wachstum und LH-Freisetzung bei Sperlingen (YOKOYAMA, 1977).
Stimulatorische Effekte von LHRH in vitro werden durch hohe Dosen Testosteron blockiert (BONNEY and CUNNINGHAM, 1975).

- An der Hypophyse kann auch ein positiver "feedback-Effekt" durch Gonadensteroide stattfinden. Beobachtungen an Truthahnhypophysenzellen zeigten, daß Testosteron in bestimmten Dosierungen die GnRF-Freisetzung potenzieren kann (GODDEN et. al., 1977).
Testosteron scheint auch in Hühnerhypophysenzellen die LH-Freisetzung zu fördern; dieser Effekt konnte durch Vorbehandlung mit dem Androgenantagonisten Cyproteron verhindert werden (LUCK and SCANES, 1980).
Eine positive feedback Wirkung von Testosteron an der Hypophyse wurde auch bei der Wachtel während des Einsetzens des photoperiodisch induzierten testikulären Wachstums beobachtet.
Während der Hodenentwicklung steigert sich die Ansprechbarkeit der Hypophyse gegenüber LHRH. Diese erhöhte Sensibilität verliert sich wieder, nachdem die Gonaden voll entwickelt sind.
Nach siebentägiger Photostimulation, die die LH-Ausschüttung induziert, war die LH-Antwort auf Verabreichung von LHRH bei Kastraten mit subkutan implantierten Testosteron höher als bei nicht mit Testosteron implantierten Tieren (DAVIES and BICKNELL, 1976).
- Einen Hinweis auf das Bestehen einer morphologischen Grundlage für einen "Steroid-feedback" im Hypothalamus gibt die Tatsache, daß nach Injektion von Tritium markiertem Testosteron Perikarya im rostralen und caudalen Hypothalamus Radioaktivität aufweisen. (MORELL et al., 1974) Beim Huhn, Zebrafink und Buchfink fand sich hohe Radioaktivität in der Gegend des Nucleus opticus und im Nucleus infundibularis, (s.Abb.2).

Abb. 2

Schematische Darstellung von Hypophyse und Nervenfasern aus dem Hypothalamus



Da in der Umgebung des Nucleus praeopticus auch GnRF-Perikara liegen, scheinen GnRF- und Steroidzielzellen nahe beieinander zu liegen, was eine Grundlage für eine Steroid-feedback Kontrolle der GnRF-Freisetzung bedeuten könnte. Ob die GnRF-Perikarya an sich Steroidzielzellen sind, ist noch nicht geklärt.

Es besteht auch die Möglichkeit, daß in diesen Perikarya eine steroidabhängige Regulation des Paarungsverhaltens stattfindet.

Testosteron kann auch eine direkt hemmende Wirkung am Hypothalamus auf die GnRF-Freisetzung haben. Durch elektrische Stimulation am Nucleus infundibularis wird bei der Wachtel LH freigesetzt. Diese LH-Menge nimmt ab, während der Plasma-Testosteronlevel im Verlauf des Hodenwachstums zunimmt, wobei die Reaktion der Hypophyse auf LHRH nicht vermindert ist (SHARP, 1983).

Testosteron zeigt auch eine direkte Wirkung auf verschiedene Organe, wobei eventuell 5-Alpha-Dihydrotestosteron die aktive Form ist, da im Kamm, in Kehllappen und in der Bürzeldrüse Testosteron zu 5-Alpha-Dihydrotestosteron umgewandelt wird (GLOYNA and WILSON, 1969).

- Es ist nicht gesichert, ob Androgene eine lokale Rolle bei der Kontrolle der Spermatogeneseaktivität der Hodenkanälchen spielen.
- Niedrige Dosierung von Testosteron und synthetischem Androgen, Methandrostenolen, bringen das Germinalepithel von juvenilen Hähnen zur Reifung. Hohe Dosierung hemmt den Reifungsprozeß (KUMARAN and TURNER, 1949; SIEGEL, 1964).
- Es ist möglich, daß Androgene die Transformation von sekundären Spermatozyten zu Spermatiden und FSH die Entwicklung früherer Stadien unterstützt. Androgene sollen die Spermatogenese aufrecht erhalten, nachdem diese unter Einfluß der Hypophyse eingesetzt hat (LACY and PETTITT, 1970; CHRISTENSEN and MASON, 1965; STEINBERGER and DUCKETT, 1965).

Große Mengen von Androsteron stimulieren das Wachstum des Ductus deferens beim Kapaun (CALLOW and PARKES, 1935). NISHIYAMA (1954) beschreibt die durch Testosteron bedingte Entwicklung des Ductus deferens und des Kopulationsorgans.
Verabreichung von hohen Dosen Testosteron (3 mg) an Eintagsküken führen nach 1 Woche zu deutlichem Wachstum des Kopulationsorgans, während das Hodenwachstum wahrscheinlich durch negeative feedback-Wirkung auf die Gonadotropinsekretion gehemmt wird (LAKE, 1971).

Androgene beeinflussen neben der Ausbildung sekundärer Geschlechtsmerkmale auch Gewebe, die nicht mit der Fortpflanzung im Zusammenhang stehen, so die Entwicklung der Bürzeldrüse (KAR, 1947) und die Rückbildung der Bursa fabricii (GLICK, 1957). Außerdem wird der Lipidstoffwechsel der Leber beeinflußt und der Muskelaufbau stimuliert (BALNAVE, 1969, 1969; GRIMINGER, 1976).

Androgene steuern auch das Sexualverhalten des Hahns (s. 2.5.1.)

2.4.2. Luteinisierungshormon, LH und follikelstimulierendes Hormon, FSH

2.4.2.1. Struktur und Wirksamkeit von Goadotropinen beim Vogel

Beim Sauger sind beide Gonadotropine hochmolekulare Glykoproteide mit einem Zuckeranteil von etwa 20%. LH und FSH bestehen aus 2 dissoziierbaren Ketten, die als Alpha- und Beta-Einheit bezeichnet werden. Die Alpha-Einheit ist bei beiden Hormonen gleich, die Beta-Einheit ist spezifisch. Das Molekulargewicht von LH beträgt 40 000, das von FSH 25 000 (NEUMANN und SCHENCK, 1977).

- STOCKNELL HARTREE et al., 1969 isolierten LH und FSH beim Huhn.
- NAKAJO and IMAI, 1956 stellten fest, daß Vogel-Gonadotropine beim Vogel wirksamer sind als beim Säuger.
- In Bioassays sind sie in niedrigeren Dosierungen beim Vogel stärker wirksam als Säuger-Gonadotropine. Beim Säuger gilt das Gegenteil (FURR and CUNNINGHAM, 1970).
- Nach FURR und CUNNINGHAM hat Vogel-LH andere biologische Eigenschaften als Säuger-LH und es besteht eine Spezies-spezifität im Hinblick auf die Reaktion auf Gonadotropine.

2.4.2.2. Ort der Gonadotropinsynthese

LH und FSH werden beim Huhn in 2 basophil anfärbbaren Zelltypen produziert, die beide im Vorder- und Trichterlappen der Adenohypophyse vorkommen (TIXIER-VIDAL et al., 1973).

2.4.2.3. LH-Konzentration im Blut und Rhythmizität

CULBERT et al., (1977) maßen die Veränderungen des LH-Spiegels bei Hähnen der Thornber 909-Linie zwischen der 9. und 44. Lebenswoche.

Die folgenden mittleren Serumkonzentrationen wurden mit einem Radioimmunoassay gemessen: In der 9. bis 10. Woche 5,9 bis 8,6 ng/ml, in der 17. bis 23. Woche 6,4 bis 10,8 ng/ml und in der 25. bis 44. Woche 10,3 bis 12,2 ng/ml.

Der LH-Anstieg in der 21. bis 22. Woche von 6,4 auf 10,8 ng/ml findet 2 Wochen vor dem Anstieg der Testosteron-Konzentration in der 22. bis 23. Woche von 2,2 auf 9,5 ng/ml statt.

- Beim Hahn liegen Untersuchungsergebnisse über die rhythmische Freisetzung von LH vor.

Bei den Tieren der Thornber 909 und Shaver 288-Linie wurde eine episodische Freisetzung von LH festgestellt. Die sekretorischen Phasen dauern 90 - 120 Minuten und werden durch einen 100% - 200%-igen Anstieg von LH über 10 bis 15 Minuten charakterisiert, der von einem langsameren exponentiellen Abfall der LH-Konzentration gefolgt wird.

Die mittleren Plasma-LH-Spiegel der einzelnen Tiere lagen bei Blutentnahmeintervallen von 3 bis 4 Stunden zwischen 7 und 17 ng/ml.

- Bei kürzeren Entnahmeintervallen mittels Kanüle waren die LH-Spiegel, besonders zu Beginn der Untersuchung so stark erniedrigt, daß die Amplituden der Schwankungen nicht mehr meßbar waren, was auf die größere Belastung der Tiere zurückgeführt wird.
- Die Halbwertszeit von LH, die bei diesen Versuchen errechnet wurde, beträgt 17-23 Minuten, was mit dem von SCANES and FOLLET (1973) durch Injektion von ^{125}J-markiertem Vogel LH ermittelten Wert übereinstimmt.
- Diese Ergebnisse sprechen dafür, daß die LH-Sekretion in der Phase der Konzentrationsabnahme völlig sistiert, was auf eine abrupte Releasing-Hormon-Ausschüttung zurückzuführen ist (WILSON and SHARP, 1974).

Beim Wachtelhahn wurde ein ähnliches Sekretionsmuster gefunden.

Dabei wurde ein zeitlicher Zusammenhang zwischen LH- und Testosteronsekretion festgestellt.

Die LH-Pulse erfolgen gleichzeitig bis zu 75 Minuten vor den Testosteronpulsen. Der Testosteronabfall ist häufig mit einem LH-Anstieg verbunden.

Der zeitliche Ablauf der LH- und Testosteronausschüttung war bei einer großen Anzahl der männlichen Tiere der Population ähnlich (OTTINGER, 1983).

2.4.2.4. Wirkungsweise von LH und FSH

Das normale Funktionieren der Hypophyse ist für Entwicklung und Erhaltung des testikulären Germinalepithels und der Leydigschen Zwischenzellen notwendig (VAN TIENHOVEN 1970).

FSH initiiert dabei das Wachstum der Hodenkanälchen, LH fördert die Entwicklung von extratubulären Leydigzellen, die ihrerseits Androgene produzieren (GRABER et al., 1967).
Säuger-LH und FSH stimulieren in vitro die Testosteronsynthese aus 1 - C Acetat im Hoden von 2 Tage alten Küken, wobei nicht gesichert ist, ob es sich um eine synergistische Wirkung von beiden Hormonen handelt (CONNEL et al. 1966). Die beiden Gonadotropine regulieren die Synthese indem sie die Steroid-metabolisierenden Enzyme kontrollieren. So fördert LH die Zunahme der Testosteron im Verhältnis zur Androstenedionkonzentration im Hühnerhoden eventuell durch Stimulation der 17 Beta-Hydroxysteroiddehydrogenase, wodurch aus der weniger wirksamen Vorstufe Testosteron gebildet wird (CONNEL et al., 1966).
Verabreichung von Prolaktin bedingt bei manchen Geflügelrassen Hodenregression, Reduktion der Androgensekretion und Abnahme des Kammwachstums. Dabei dürfte es über eine FSH-Hemmung wirken, da FSH, aber nicht LH per se, bei Prolaktin-behandelten Hähnen Germinalepithel und Androgensekretion aufrecht erhalten kann (NALBANDOV 1945).
Bei modernen Hühnerlinien, die kein prolaktinempfindliches Brutverhalten aufweisen, soll es auch keine Prolaktinwirkung am Hoden geben (LAKE, 1971).

2.4.3. Gonadotropin Releasing Factor (GnRF) und synthetisches Luteinisierungshormon Releasing Hormon (LHRH) x)

2.4.3.1. Struktur und Wirksamkeit von GnRF und LHRH

Der Gonadoropin-Releasing-Factor, GnRF, des Vogels wurde erst vor kurzem isoliert.
Es handelt sich um ein Dekapeptid, mit der Aminosäuresequenz Pyroglutamyl-Histidin-Tryptophan-Serin-Tyrosin-Glycin-Glutamin-Arginin-Prolin-Glycin-NH . Die Struktur weicht von der des synthetisch hergestellten Säuger-Luteinisierungshormon-Releasing-hormons (LHRH) in der Gln 7 Position ab, die dort durch Leucin ausgefüllt wird.

- Aus der Hypophyse der Wachtel wird durch Wachtel-Hypothalamusextrakt die LH-Freisetzung effektiver stimuliert, als durch Ratten-Hypothalumusextrakt (HATTORI et al., 1980) während biologisch aktive Analoge von LHRH nicht dieselbe Effektivität in Huhn und Ratte haben (JACKSON, 1971)
- Synthetisches LHRH ist beim Vogel biologisch aktiv, aber weniger stark wirksam als beim Säuger. Dosierungen im µg-Bereich sind notwendig, um eine Gonadotropinfreisetzung zu bewirken.
- Bei der Wachtel steigen die LH- und FSH-Konzentrationen im Plasma 2 Minuten nach intramuskulärer Injektion von 10 µg synthetischem LHRH. Der LH-Spiegel fällt nach 60 Minuten wieder auf den Ausgangswert ab. Der FSH-Spiegel blieb während einem 90 Minuten dauerndem Versuch erhöht. LHRH scheint einen sekretorischen LH-Puls und eine länger unterhaltene FSH-Freisetzung auszulösen.
  Wurden 2 GnRF-Injektionen im Abstand von 60 Minuten verabreicht, potenzierte die erste GnRF-Gabe die LH-Freisetzung der zweiten. Ein solcher Effekt kam unter Gonadorelin-Wirkung nicht zustande (DAVIES and COLLINS, 1979).

x) internationale Kurzbezeichnung "Gonadorelin"

Die LHRH-Wirkung wird durch zyklisches AMP vermittelt (BONNEY and CUNNINGHAM 1977; LUCK and SCANES, 1980)

2.4.3.2. Lokalisation von GnRF

Mit immunzytochemischen Methoden und Antiseren gegen synthetisches LHRH wurden LHRH-ähnliche Strukturen in den Nervenendigungen im vorderen und hinteren Teil der Eminentia mediana der Hypophyse von Ente und Wachtel gefunden (CALAS et al., 1973; M.C. NEILL et al., 1976; HATTORI et al., 1980). Dieser Befund spricht für die Richtigkeit der Ansicht, daß von hier GnRF freigesetzt wird, um dann im Vorderlappen (Pars distalis) und Trichterlappen (Pars tuberalis) der Adenohypophyse die Gonadotropine zu stimulieren.
Bei der Ente sind Perikarya mit LHRH-ähnlichem Material bilateral im dorsalen Teil des Nucleus praeopticus periventricularis (BONS et al., 1978a), und im unteren Bereich des Infundibulums in der Nähe der Eminentia mediana (BONS et al., 1978b) gruppiert. Diese zweite Gruppe wurde beim Huhn nur mit Antiserum nachgewiesen, das anti-LHRH- sowie anti-ACTH-Aktivität besaß (HOFFMAN et al 1978; CLAYTON and HOFFMAN, 1979).
Beim weiblichen Haushuhn wurden mit spezifischen Antikörpern immunreaktive Perikarya nachgewiesen, die in bilateralen Banden nahe des dritten Ventrikels vom Nucleus praeopticus paraventricularis magnocellularis aus vor der Comissura rostralis verlaufen (HOFFMAN et al, 1978).

2.4.3.3. Wirkungsweise des GnRF

GnRF fördert die Sekretion von LH und FSH (s. 2.4.2.4.)
Die output-Rate von GnRF wird dabei durch Bestandteile der hypothalamo-hypophysären Achse reguliert (s. 2.4.1.4.).

Durch Photorezeptoren sowie ein System von "biologischen Uhren" das aus Epiphyse, Nucleus suprachiasmaticus und Retina zusammengesetzt ist, wird die GnRF-Abgabe ebenfalls beeinflußt (SHARP, 1984).

2.5. Verhalten

Das Paarungsverhalten des Hahns umfaßt 3 Stadien: das Balzen, "Walzing" - wobei sich der Hahn mit einem zum Boden hin gehaltenen Flügel der Henne seitwärts schnell nähert - den Paarungsversuch und das eigentliche Treten.
WILSON and GLICK (1970) zeigten, daß die kritische Periode für die Ausbildung des männlichen Paarungsverhaltens beim Hühnerembryo vor dem 13. Entwicklungstag liegt. Diese "kritische Periode" ist definiert als der Zeitraum, in dem das Paarungsverhalten im späteren Leben durch Steroidgabe eliminiert wird, was eventuell auf eine Hemmung der Cholesterinsynthese während des schnellen Myelinisierunsprozesses des Hypothalamus zurückzuführen ist.
Bei der männlichen Wachtel wird durch Kastration das Paarungsverhalten ausgeschaltet, durch Androgengaben wird es wieder hergestellt (KANNANHERIL and DOMM, 1968).
Beim Enten- (GOGAN, 1968) und beim Hühnerküken (MEYER, 1973) wird radioaktives Testosteron im Bereich des Nucleus praeopticus aufgenommen, was dafür spricht, daß steigende Androgenkonzentrationen beim Einsetzen der Geschlechtsreife direkt auf den Hypothalamus einwirken und dort das männliche Sexualverhalten induzieren.
GARDNER and FISHER (1968) implantierten Testosteron in den Nucleus praeopticus beim juvenilen Hahn, BARFIELD (1969) bei geschlechtsreifen Hähnen und bei Kapaunen. Testosteron wirkte dabei offenbar in der Gegend des Nucleus praeopticus und der vorderen Hypothalamusgegend und aktivierte das Kopulationsverhalten, nicht aber Balzverhalten und Agressivität.

Implantation von Testosteronpropinat im Nucleus praeopticus paraventricularis magnocellularis stimulierte auch in den Versuchen von CRAWFORD und GLICK (1975) das Paarungsverhalten von im Embryonalstadium mit Testosteronpropionat behandelten Hähnen und Kontrolltieren.

3. Material und Methoden

3.1.1. Tiermaterial

Untersucht wurden dys- und normogammaglobulinämische geschlechtsreife Tiere der UM B19-Linie. Als Kontrolltiere dienten weiße Leghornhähne aus der Bayerischen Landesanstalt für Tierzucht in Grub und Broilerhähne der Rasse Deutscher Blausperber.

3.1.2. Haltung

Die Hähne wurden in Einzelkäfigen auf Gitterboden in Sichtkontakt mit anderen Tieren im 16/8-Stunden Lichtprogramm gehalten.
Futter und Wasser standen ad libitum zur Verfügung.

3.2. Messen und Wiegen der Hoden

Tiere, die aus der Zucht ausschieden, wurden mit Nembutal in einer Dosierung von 2,5 mg/kg iv. narkotisiert und entblutet. Die Hoden wurden entnommen, gewogen, Länge und Breite wurden an der Stelle des größten Durchmessers gemessen.
Bei 9 Hähnen wurden Länge und Breite des linken Hodens intra vitam unter Ketanest-Narkose (30 mg/kg, i.m.) nach linksseitiger Laparatomie gemessen, um diese Werte mit den nach dem Ausscheiden aus der Zucht gemessenen zu vergleichen.

3.3. Histologische Präparate

Aus den Hoden wurden ca. 1 cm x 5 mm große Querschnitte entnommen.
Davon wurde je eine Probe in Formalin, eine weitere 3 Minuten in Isopentan in flüssigem Stickstoff bei -196° C fixiert und bei -20° C gelagert.
Von diesen Gewebeproben wurden Hämatoxilin-Eosin gefärbte Paraffinschnitte angefertigt. x)

3.4. Spermauntersuchung

3.4.1. Spermagewinnung

Um die Tiere an die Samenentnahme zu gewöhnen und um maximale Spermamengen zu erhalten, wurden alle Hähne vor der ersten gewerteten Untersuchung dreimal abgesamt.
Alle Tiere wurden in der Folge regelmäßig zweimal pro Woche abgesamt, um Ejakulate gleichmäßiger Qualität zu erhalten.
Die Auslösung des Ejakulationsreflexes erfolgt durch mehrmaliges Streichen des Rückens mit dem Handballen, das mit einer Aufwärtsbewegung an der Schwanzbasis endet.
Auf das Auspressen des Spermas aus dem Endteil des Samenleiters wurde verzichtet, um eine Beimischung von Lymphflüssigkeit zu verhindern.
Das Sperma wurde in einem sterilen Glasröhrchen aufgefangen und bis zur Untersuchung in einem Wasserbad bei Zimmertemperatur (18 - 20° C) gehalten.

---

x) Die histologischen Präparate wurden im Institut für Pathologie angefertigt.

3.4.2. Volumen

Das Volumen wurde in 0,2 ml Enzymtestpipetten gemessen. x)

3.4.3. Konsistenz, Farbe und pH-Wert

Konsistenz und Farbe geben Aufschluß über Dichte und Grad der Verschmutzung bzw. Beimengungen.
Da in mit Harnsäurekristallen oder flüssigem Kot verunreinigtem Sperma die Bewegungsaktivität schnell nachläßt (BOONE and HUGHES, 1970) wurde makroskopisch verunreinigtes Sperma verworfen.
Die Messung des pH-Wertes erfolgte mit Lyphan Indikatorpapier L 66 9-8 im Bereich 6,6 - 8,0. Alkalische Werte sind auf Beimischungen, auch von Lymphflüssigkeit sowie auf längere in vitro-Lagerung zurückzuführen. Auch solche alkalischen Proben wurden verworfen.

3.4.4. Motilität

Ein Tropfen Sperma wurde auf einen vorgewärmten Objektträger verbracht und ein Deckglas aufgelegt.
Die Temperatur des Heiztisches betrug 40° C. Die Betrachtung erfolgte bei 400-facher Vergrößerung und Phasenkontrast.
Geschätzt wurde der Prozentsatz der sich vorwärtsbewegenden, der sich am Ort bewegenden und der unbeweglichen Spermien.
Diese subjektive Beurteilung wurde zur Kontrolle in regelmäßigen Abständen von 2 Personen durchgeführt.

3.4.5 Lebend - Tot - Färbung

Die Anfärbung erfolgte nach der Methode von COOPER and ROWELL (1958). Eine Lösung aus 1g Eosin blau, 5g Nigrosin und 100 ml aqua destillata wurde bei + 4° C aufbewahrt.

---

x) Arbeitsplatz, Geräte und Material wurden freundlicherweise von Prof. Dr. W. Leidl zur Verfügung gestellt.

Ein Tropfen Sperma, im Wasserbad bei + 15° C gehalten, wurde mit 10 Tropfen Farblösung vermischt. Die Färbezeit betrug 1 Minute.
1 Tropfen des Gemisches wurde auf einem Objektträger ausgestrichen und an der Luft getrocknet.
Bei 1000-facher Vergrößerung, Ölimmersion, Hellfeld, wurden 300 Spermien ausgezählt. Jedes, auch nur teilweise angefärbte Spermium wurde als tot gezählt.

3.4.6. Morphologie

Die Beurteilung der Morphologie erfolgte im mit Eosin-Nigrosin gefärbten Ausstrichpräparat bei 1000-facher Vergrößerung, Ölimmersion im Hellfeld.
Es wurden insgesamt 300 Spermien ausgezählt. Die Einteilung der Mißbildungen erfolgte im wesentlichen nach der Klassifikation von MARVAN, ROB und JANECKOVA (1981) nach folgendem Schema:

1. Kopfmißbildungen
   a) Teratoidformen; unreife Formen, bei denen die Verlängerung nicht zustande gekommen ist.
   b) Formanomalien
   c) Änderungen in der Gestaltung
   (b und c sind im Spermatidenstadium deformiert)
2. Verbindungsstückdefekte
3. Geißelanomalien
4. "Crooced-neck"-Formen (SAEKI, 1969) auch bent head-midpiece / midpiece-tail junctions. Diese Form ist ein Zeichen von Verbindungsstückschwäche. Sie ist motil aber befruchtungsunfähig.
5. "Krümmlinge"
   Veränderung, die der "crooced-neck"-Form ähnlich ist, bei der die Geißel jedoch eine deutliche Biegung an der Umschlagstelle aufweist, sowie eine Form, bei der das gesamte Spermium in sich verknäuelt ist, eine späte Form der Desintegration.

3.4.7. Dichte

Das Sperma wurde in einer Erythrozytenpipette mit aqua destillata im Verhältnis 1:100 verdünnt.
Ausgezählt wurde mit einer Zählkammer nach Bürker-Türk, mit Phasenkontrast und bei 320-facher Vergrößerung.

3.5. Hormonbestimmung

3.5.1. Serum

Blut wurde aus der Flügelvene entnommen. Die Proben wurden bei 37° C 45 Minuten lang inkubiert und anschließend über Nacht bei + 4° C aufbewahrt.
Das Serum wurde durch zweimaliges Zentrifugieren bei 2000 Umdrehungen/Min. gewonnen und bis zur Auswertung bei -20° C tiefgefroren.

3.5.2. Testosteronbestimmung

Testosteron wurde mit Radioimmunoassay (Direct Testosterone - ^{125}J Kit, DRG-Instruments GmbH Marburg) bestimmt, das freies und proteingebundenes Testosteron nachweist.
Eine gewisse Menge spezifischer Antikörper reagiert mit markiertem Testosteron. Unmarkiertes Testosteron bindet sich ebenfalls an den Antikörper. Je mehr Testosteron im Serum vorhanden ist, desto weniger radioaktiv markiertes Hormon kann an den Antikörper gebunden, und von einem zweiten, präzipitierenden Antikörper gefällt werden. Nach Dekantieren des Überstandes wurde die Radioaktivität im Niederschlag mit einem Gammazähler (Packard-Auto-Gamma 500) gemessen. Mit bekannten Testosteronkonzentrationen wird eine Standardkurve aufgestellt, anhand derer die unbekannten Proben ermittelt werden können.

3.5.3. LH-Bestimmung

LH-Konzentrationen wurden nach Follet et al. (1972) mit einer post-precipitatien double antibody Methode und Radioimmunoassay mit gereinigtem Jod-markiertem Hühner LH und Antikörper gegen Hühner-LH gemessen. Die Messungen wurden freundlicherweise von P. Sharp, Poultry Research Center, Roslin, Midlothian, durchgeführt.

3.5.4. Testosteron - Tagesverlauf

Bei dysgammaglobulinämischen geschlechtsreifen Hähnen und Kontrolltieren, weißen Leghornhahnen, wurden in 2-stündigen Abständen über 24 Stunden von 18.00 bis 18.00 Blutproben zur Testosteronbestimmung gewonnen.
In der Dunkel-Phase wurde die Blutentnahme in einem dem Stall angrenzenden Raum durchgeführt, um eine Beeinflussung der Hormonausschüttung durch Lichteinfluß zu verhindern.

3.5.5. LH-Schwankungen

LH-Konzentrationen wurden, soweit die gewonnenen Serummengen es erlaubten, in Stichproben des 24 Stunden-Testosteronverlaufs bei dysgammaglobulinämischen Hähnen gemessen.
Nach Bestimmung der stärksten Testosteronschwankung wurden, zu einem späteren Zeitpunkt in diesem Zeitraum bei denselben Tieren Blutproben zur LH-Bestimmung in 1/2-stündigen Abständen über 4 Stunden entnommen.

3.5.6. Stimulation der Hypophyse durch LHRH

GnRH bewirkt an der Hypophyse eine LH-Freisetzung, die zur Testosteronausschüttung führt. 2 Gruppen dysgammaglobulinämischer Tiere wurden je 10 und 2 µg Lutal, im Folgenden als LHRH bezeichnet

---

Lutal - Höchst

in 0,9%iger steriler Kochsalzlösung, in die Flügelvene injiziert. Einer Gruppe normogammaglobulinämischer Tiere wurde ebenfalls 10 µg LHRH verabreicht. Blutproben für die Testosteronbestimmung wurden vor der LHRH-Gabe, 45 und 120 Minuten post injectionem genommen.
Zu den gleichen Zeitpunkten wurden Blutentnahmen bei dys- und normogammaglobulinämischen Kontrolltieren durchgeführt, die eine Injektion von o,5 ml steriler Kochsalzlösung erhielten.
Die Spermadichte wurde vor der Injektion von 10 µg LHRH und in der Folge zweimal pro Woche über einen Zeitraum von 5 Wochen bei zwei normogammaglobulinämischen und drei dysgammaglobulinämischen Tieren bestimmt, deren Sperma vorher über einen längeren Zeitraum untersucht worden war.

3.5.7. Effekt von LHRH-Gaben bei Applikation in 14-tägigen Abständen

Zwei Gruppen dysgammaglobulinämischer Hähne wurden je 2 und 10 µg LHRH in 0,9%-iger Kochsalzlösung i.v. injiziert. Die Injektionen erfolgten in 2-wöchigen Abständen, jeweils zur gleichen Uhrzeit über 10 Wochen. Dysgammaglobulinämische Kontrolltiere erhielten Injektionen von 0,5 ml Kochsalzlösung. Blutentnahmen zur Testosteronbestimmung erfolgten jeweils vor der LHRH-Gabe. Die Spermadichte wurde zweimal pro Woche bestimmt.

3.5.8. Effekt von LHRH-Gaben bei täglicher Applikation

Einer Gruppe dysgammaglobulinämischer Tiere wurden im 24-stündigen Abstand über einen Zeitraum von 14 Tagen 2 µg LHRH in 0,9%-iger Kochsalzlösung intramuskulär injiziert.
Am 15. Tag nach der ersten Injektion wurden 2 µg LHRH intravenös injiziert.
Die Testosteronkonzentration wurde in Blutproben bestimmt, die vor der Injektion, 45 und 120 Minuten, sowie am 1., 2., 8., 11., 14., und 16. Tag post injectionem genommen wurden. Diese

Werte wurden mit den nach einmaliger intravenöser Gabe von 2 µg LHRH erhaltenen Daten verglichen.

3.6. Verhalten

Dysgammaglobulinämische Hähne, in Sichtkontakt mit Hennen aufgezogen, wurden zur Angewöhnung mit diesen für die Dauer eines Tages zusammengesetzt. die Hennen wurden am Abend entfernt. Am darauffolgenden Tag wurden die Tiere wieder zusammengeführt.
Das Verhalten der Hähne wurde über einen Zeitraum von 5 Tagen je 20 Minuten beobachtet. (WILSON, 1970; HAYNES and GLICK, 1974; CRAWFORD, 1975).
Nichtbeachtung, agressives Verhalten, Balzen, Paarungsversuche und Paarungen wurden notiert.

4. Ergebnisse

4.1. Messen und Wiegen der Hoden

Beim Vergleich der Gruppen dysgammaglobulinämische UMB19-Hähne und weiße Leghorn-Hähne (Gewichte und Maße s. Tabelle 1 und 2), die sich hinsichtlich ihres mittleren Körpergewichtes nicht signifikant unterscheiden, besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den durchschnittlichen Gewichten der linken ($p < 0,002$) und der rechten Gonaden ($p < 0,01$).

Tiergruppen	n	Körpergewicht (g) $\bar{x} \pm$ SD	l. Hoden $\bar{x} \pm$ SD	r. Hoden $\bar{x} \pm$ SD
Dysgammaglobulinämische UM B19	8	1853,1 ± 190,3	4,8 ± 2,9	5,2 x) ± 2,6
weiße Leghorn	7	1909,0 ± 231,2	10,4 ± 2,3	10,3 ± 2,7

x) n = 5

Von den 9 am 27.05.83 laparatomierten Tieren (s. 3.2.) schieden sechs während der Untersuchung aus der Zucht aus. Vier, fünf und elf Monate nach der ersten Messung war bei diesen sechs Hähnen keine Veränderung der Gonadenlänge- oder breite festzustellen.

Tabelle 1: Gewichte und Maße

dysgammaglobulinämische UM-B19 Hähne

Tier Nr.	Alter(Mon)	Körpergewicht(g)	Gewicht(g) li. Hoden	re. Hoden	Größe(cm) li. Hoden	re. Hoden
1831	10	1800	1,6	---	1,5 x 0,8	---
2015	11	1750	8,6	---	3,9 x 2,1	---
2254	14	1500	6,1	5,6	3,8 x 1,7	3,5 x 1,7
2104	14	2040	5,9	2,6	3,7 x 1,5	2,9 x 1,8
1861	14	1950	1,4	---	1,2 x 0,7	---
2233	14	1780	1,9	2,9	2,6 x 1,1	2,6 x 2,2
2004	15	2105	8,0	9,0	4,0 x 1,9	4,1 x 2,2
2025	15	1900	5,0	6,0	3,5 x 1,6	3,6 x 1,8

laparatomierte dysgammaglobulinämische UM-B19 Hähne

Tier Nr.	Alter(Mon)	Körpergewicht(g)	Gewicht(g) li. Hoden	re. Hoden	Größe(cm) li. Hoden	re. Hoden
2377	5	1790			2,6 x 1,5	
2373	5	1640			2,8 x 1,4	
2071	11	2400			3,6 x 1,6	
1873	11	1990			3,6 x 1,7	
1851	13	2386			3,2 x 1,5	
1767	17	2065			3,2 x 1,5	

Tabelle 2: Gewichte und Maße

Weiße Leghorn

Tier Nr.	Alter(Mon)	Körpergewicht(g)	Gewicht(g) li. Hoden	re. Hoden	Größe(cm) li. Hoden	re. Hoden
2270	5	1802	14,0	15,0	4,9 x 2,4	5,4 x 2,1
2271	5	1669	9,0	9,0	4,2 x 1,9	3,7 x 2,3
2272	5	1770	9,0	8,0	3,7 x 2,3	3,9 x 2,0
2273	5	1817	11,0	9,0	4,3 x 2,1	4,9 x 2,0
902	9	2370	11,0	13,0	4,7 x 2,5	5,0 x 2,7
904	9	2015	12,0	10,0	4,8 x 3,2	4,5 x 2,5
907	9	1920	7,0	8,0	3,8 x 2,8	3,8 x 2,2

Broiler

Tier Nr.	Alter(Mon)	Körpergewicht(g)	Gewicht(g) li. Hoden	re. Hoden	Größe(cm) li. Hoden	re. Hoden
910	5	2600	28,0	20,7	6,0 x 3,5	5,0 x 3,3
912	5	2147	13,8	13,8	4,5 x 2,5	5,0 x 2,5
915	5	2257	18,9	19,1	4,5 x 2,5	5,0 x 2,7

4.2. Spermauntersuchung

Die einzelnen Hähne der Gruppen dysgammaglobulinämische UM B19, normogammaglobulinämische UM B19 und weiße Leghorn erbringen bei der Untersuchung des Volumens, der Motilität, des pH-Wertes, der Anzahl lebender und der Anzahl mißgebildeter Spermien Ergebnisse, die im Rahmen der in der Literatur für Ejakulate guter Qualität angegebenen Werte liegen (s. Tab.3).
Hahn 2071 hat eine erhöhte durchschnittliche Anzahl von mißgebildeten Spermien ($\bar{x}$ = 42 ± 10%), wobei 35 ± 10% auf Kopfmißbildungen, zum überwiegenden Teil Änderungen in der Gestaltung entfielen.
Signifikante Unterschiede bestehen zwischen der mittleren Anzahl Spermien/mm³ sowohl zwischen den Gruppen dys- und normogrammaglobulinämischer Hähne ($p < 0,1$) als auch zwischen den Gruppen dysgammaglobulinämischer und weißer Leghornhähne ($p < 0,05$).
Zwischen den Gruppen normogammaglobulinämische UM B19 und weiße Leghorn besteht hinsichtlich der Dichte kein signifikanter Unterschied.

	n	Dichte (Spermien/mm³) $\bar{x}$ ± SD
Dysgammaglobulinämische UM B19	7	1.020.000 ± 730.000
Normogammaglobulinämische UM B19	4	1.880.000 ± 730.000
weiße Leghorn	3	2.490.000 ± 1.180.000

Tab. 3

Spermauntersuchung bei dysgammaglobulinämischen UM-B19, normogammaglobulinämischen UM-B19 und Weißen Leghornhähnen

Tier-Nr.	n	Vol(ml)	Mot(%) Vorwbew.	Mot(%) Ortsbew.	pH	LT(%)	Ges.MB(%)	Dichte (Sp/mm³)
dysgammaglobulinämische UM-B19 Hähne								
1767	7	0,11±0,05	64,3±22,4	7,9± 9,1	7,3± 0,1	89,5± 2,6	9,6±4,5	2.290.000±1.220.000
1831	7	0,13±0,04	5,2± 2,6	10,2± 8,7	7,5± 0,1	68,0±23,6	12,3± 6,9	160.000± 100.000
1851	7	0,17±0,06	62,9±15,0	9,3±10,2	7,0± 0,2	75,7±16,5	4,3± 2,8	860.000± 610.000
1861	7	0,24±0,06	47,9±19,6	14,3± 5,3	7,2± 0,3	80,3± 2,1	10,0± 7,4	1.660.000± 770.000
1873	7	0,29±0,11	40,0±20,8	18,6±15,7	7,2±0,2	90,5± 0,7	12,7±7,2	710.000± 430.000
2025	7	0,19±0,11	44,0±32,9	10,0± 9,4	7,3±0,2	95,8±3,6	6,2±3,7	930.000± 740.000
2071	7	0,21±0,10	6,3± 3,7	13,6±9,9	7,5±0,2	78,5±7,4	42,0±10,4	500.000± 350.000
normogammaglobulinämische UM-B19 Hähne								
2117	7	0,13±0,09	47,1±24,3	21,4±17,7	7,2±0,2	79,5±11,8	12,7±11,4	1.860.000± 510.000
2156	7	0,24±0,12	34,3±19,0	15,0± 8,7	7,1±0,3	93,0± 0,0	4,4± 1,3	1.040.000±920.000
25846	7	0,08±0,04	52,9±12,5	10,0± 5,0	7,3±0,2	77,5± 6,8	8,1±3,6	2.830.000±920.000
25873	7	0,28±0,09	62,0±34,9	4,0± 2,2	7,0±0,2	84,4±11,8	9,4± 5,2	1.810.000±800.000
Weiße Leghorn								
902	7	0,20±0,08	51,4±21,9	17,1±18,9	7,3±0,2	87,6±4,9	5,5±1,7	3.730.000±1.940.000
904	7	0,14±0,06	62,9±15,0	10,0±10,0	7,1±0,2	88,6±7,1	6,0±2,3	2.340.000 ± 960.000
907	7	0,16±0,06	50,7±26,2	23,6±18,0	7,2±0,1	82,5± 9,9	7,4± 3,4	1.390.000±700.000

Werte: $\bar{x} \pm SD$; n: Anzahl der Untersuchungen/Tier; Vol(ml): Volumen in ml; Mot(%): Motilität in %; Vorwbew.: Vorwärtsbewegung; Ortsbew.: Ortsbewegung; LT(%): Anzahl lebender Spermien in %; Ges.MB(%): Gesamtanzahl der Mißbildungen in %; Dichte(Sp/mm³): Anzahl der Spermien/mm³

4.3. Testosteron - Tagesverlauf

Die Serum-Testosteronkonzentrationen in einem Tagesverlauf wurden in einer Gruppe von sechs dysgammaglobulinämischen Hähnen bestimmt (s. Abb. 3)

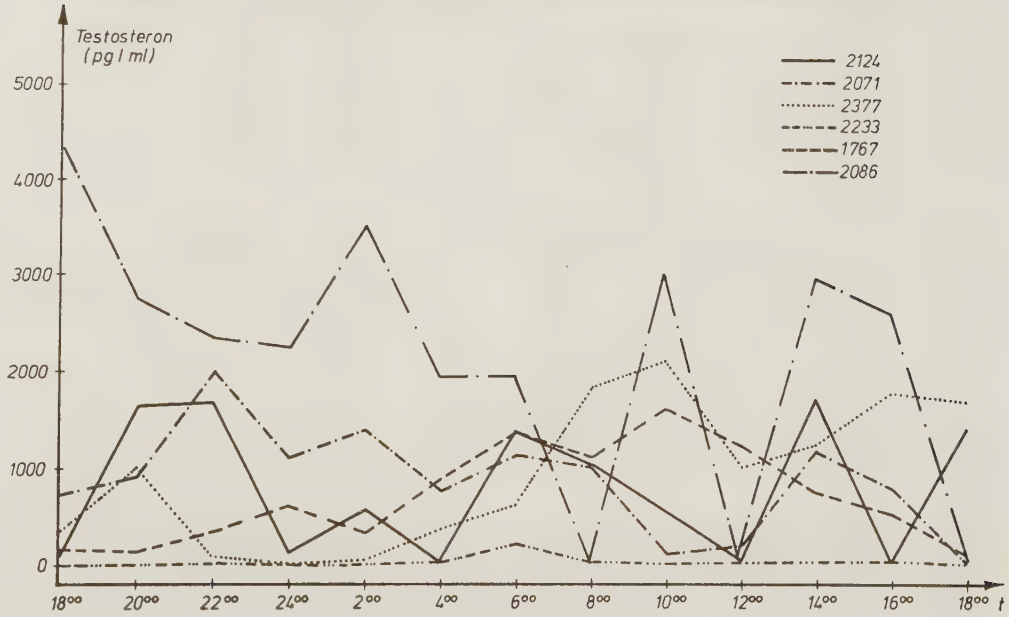
Bei dysgammaglobulinämischen Hähnen ergaben sich aus 13 Messungen in zweistündigen Abständen von 18.00 bis 18.00 folgende mittlere Testosteronkonzentrationen:

Tier-Nr.	Testosteron (pg/ml) $\bar{x} \pm SD$
2124	796 ± 702
2233	34 ± 60 (außerhalb RIA-Meßbereich)
2071	884 ± 546
2086	2162 ± 1339
1767	721 ± 505
2377	943 ± 750

Außer bei Tier Nr. 2233 sind bei allen Hähnen im gesamten 24-Stunden-Verlauf deutliche Amplituden vorhanden. Eine Amplitudenverkleinerung, verursacht durch Reduktion der LH-Pulse durch Streß kann ausgeschlossen werden. Demnach liegen die höchsten erreichten Konzentrationen, außer bei Hahn Nr. 2086, der bei 8 von 13 Messungen Werte über 2000/pg/ml aufwies, deutlich unter dem Normbereich. Hahn 2071 hat nur einmal 2009 pg/ml, 2377 erreicht einmal 2111 pg/ml. Bei den dysgammaglobulinämischen Hähnen ist kein diurnaler Rhythmus zu erkennen.

Abb.: 3

Tagesverlauf der Serum-Testosteronkonzentrationen von dysgammaglobulinämischen Hähnen



4.4. Testosteronkonzentration nach LHRH-Verabreichung s. Abb. 4

Die Reaktionsfähigkeit der Hypophyse wurde indirekt durch Messung des Testosteronspiegels, der infolge einer erhöhten LH-Ausschüttung ansteigt, nach Verabreichung einer einmaligen LHRH-Injektion überprüft.

Bei der Gruppe der mit 10 µg LHRH behandelten normogammaglobulinämischen Tiere steigt die mittlere Testosteronkonzentration 45 Minuten p.i. von 2820 auf 3122 pg/ml an. Dies entspricht einem Anstieg von 11% gegenüber dem Ausgangswert.

Bei der mit 10 µg behandelten Gruppe dysgammaglobulinämischer Tiere erhöht sich die Testosteronkonzentration von 1555 auf 2854 pg/ml, was einer Steigerung von 84% gegenüber dem Ausgangswert entspricht ($p < 0,1$); nach Verabreichung von 2 µg erhöht sich die Konzentration von 586 auf 1366 pg/ml, entsprechend 133% ($p < 0,25$).

Die Testosteronkonzentration ging bei allen drei Gruppen 120 Minuten p.i. zurück. Bei der Gruppe der mit 10 µg behandelten normogammaglobulinämischen Hähne auf 1348, bei der Gruppe dysgammaglobulinämischer Hähne auf 923 pg/ml, was einem Abfall gegenüber dem Ausgangswert von 52 ($p < 0,02$) und 41% ($p < 0,01$) entspricht.

Bei der mit 2 µg LHRH behandelten Gruppe dysgammaglobulinämischer Tiere liegt die Testosteronkonzentration mit 600 pg/ml nach 120 Minuten 2% über dem Ausgangswert.

Bei der Kontrollgruppe unbehandelter normogammaglobulinämischer Tiere sinkt die Testosteronkonzentration vom Zeitpunkt vor der Injektion bis 45 Minuten p.i. um 1% und ist nach 120 Minuten um 10% des Ausgangswertes gestiegen.

Bei der Kontrollgruppe dysgammaglobulinämischer Hähne hat nach 45 Minuten ein Anstieg um 39%, nach 120 Minuten um 50% gegenüber dem Ausgangswert stattgefunden.

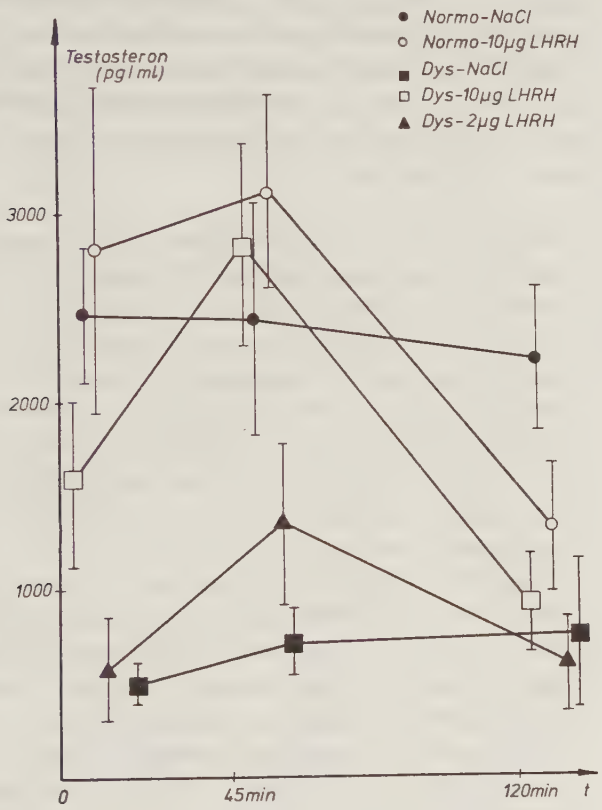
Tier-gruppen	n	LHRH-Dosierung	To (pg/ml) $\bar{x} \pm SD$	T45 (pg/ml) $\bar{x} \pm SD$	T120(pg/ml) $\bar{x} \pm SD$
Normo.	2	0,9% NaCl	2474 ± 727	2447 ± 634	2222 ± 78
Normo.	5	10 µg LHRH	2820 ± 1743	3122 ± 1054	1348 ± 684
Dys.	3	0,9% NaCl	507 ± 116	705 ± 375	763 ± 79
Dys.	5	10 µg LHRH	1555 ± 964	2854 ± 1088	923 ± 537
Dys.	5	2 µg LHRH	586 ± 557	1366 ± 871	600 ± 482

TO: Testosteron vor Behandlung
T45: Testosteron 45 Min. p.i.
T120: Testosteron 120 Min. p.i.

Die mittleren Ausgangswerte aller unbehandelten normo- und dysgammaglobulinämischen Tiere unterscheiden sich signifikant ($p < 0,01$; s. untenstehende Tabelle)

Tiergruppen	n	Testosteron pg/ml $\bar{x} \pm SD$
Dys.	13	1001 ± 807
Normo.	7	2721 ± 1464

Abb.: 4 Serum-Testosteron Konzentration nach Verabreichung von LHRH



4.5. Spermadichte nach LHRH-Verabreichung

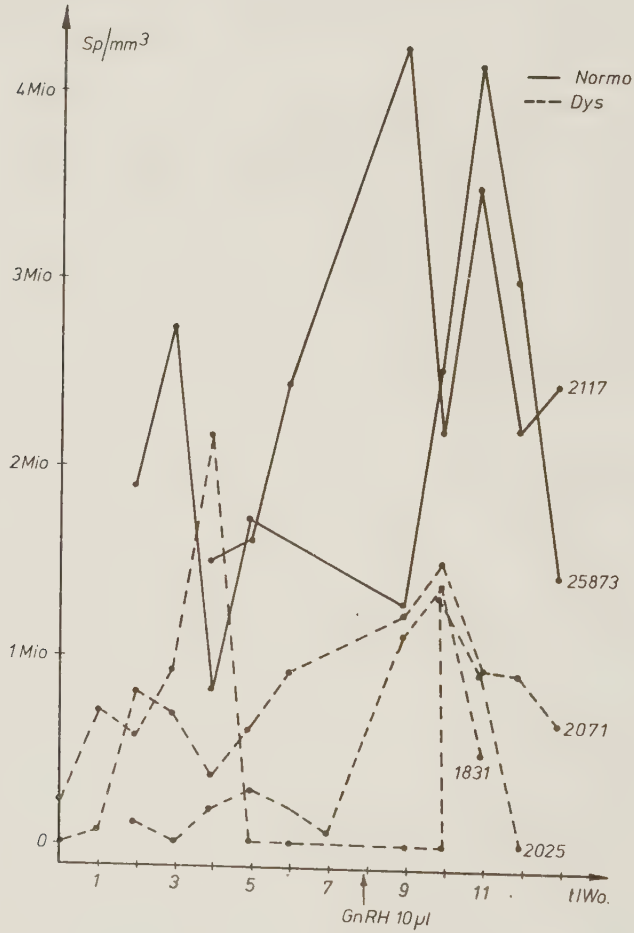
Bei 3 dys- (2071, 1831, 2025) und 3 normogammaglobulinämischen (2117, 25873) Hähnen, die mit einer einmaligen Dosis von 10 µg LHRH behandelt wurden, waren mehrere Ejakulate der einzelnen Tiere in einwöchigen Abständen untersucht und die Dichte ausgezählt worden. Nach der LHRH-Verabreichung wurde die Dichte einmal pro Woche über drei bis fünf Wochen bei diesen Hähnen ausgezählt (s. Abb. 5).

- Hahn 2071 hat eine mittlere Dichte von 500.000 Spermien pro mm^3 (n=6). Zwei Wochen vor der LHRH-Gabe hat das Sperma eine Dichte von 920.000, eine Woche p.i. von 1.200.000, zwei Wochen p.i. von 1.500.000 Spermien pro mm^3, was einer Erhöhung von 67% gegenüber dem Ausgangswert entspricht.
- Hahn 1831 mit einer mittleren Dichte von 160.000 Spermien/mm^3 (n=6) hat im letzten vor der Behandlung gemessenen Ejakulat 80.000, eine Woche p.i. 1.120.000, zwei Wochen p.i. 1.380.000 Spermien/mm^3, was eine Steigerung von 1625% gegenüber dem Ausgangswert bedeutet.
- Hahn 2025 hat eine durchschnittliche Dichte von 930.000 Spermien/mm^3 (n = 5). Nach der 5. Untersuchung, vier Wochen vor und eine Woche nach der LHRH-Injektion konnten keine oder nur Ejakulate ohne Spermien gewonnen werden. Zwei Wochen p.i. wurden 1.380.000 Spermien pro mm^3 gezählt.
  Bei allen drei dysgammaglobulinämischen Hähnen ist in der zweiten Woche p.i. eine erhöhte Spermiendichte gegenüber den Ausgangswerten festzustellen.
  In der dritten Woche p.i. sind die Werte bei allen drei Tieren wieder erniedrigt.
- Der normogammaglobulinämische Hahn 2117 mit einer mittleren Soermiendichte von 1.860.000 (n=3) hat zwei Wochen vor der GnRH Gabe 2.440.000 Spermien/mm^3. Eine Woche p.i. steigt die Konzentration auf 4.220.000 d.h. um 72% nach einem Absinken auf 2.210.000 in der zweiten Woche erfolgt ein zweiter Anstieg um 57% auf 3.480.000.

- Bei Hahn 25873, der eine mittlere Dichte von 1.810.000 aufweist, werden drei Wochen vor der Injektion 1.730.000 Spermien pro mm^3 gezählt. Nach einer Woche erfolgt eine Abnahme um 28%, in der zweiten Woche steigt der Wert um 72% auf 2.500.000 (72%), in der dritten Woche um 97% auf 3.410.000 Spermien pro mm^3.

Abb.:5

Anzahl der Spermien pro mm^3 (Sp/mm^3) vor und nach Verabreichung von 10µg LHRH



4.6. Verlauf der Serum-Testosteronkonzentration und Anzahl Spermien während und nach LHRH-Verabreichung in zweiwöchigen Abständen (s. Abb. 6-10)

Da zwei Wochen nach der einmaligen LHRH-Injektion die Spermiendichte anstieg, wurde versucht, durch mehrmalige Verabreichung von LHRH in zweiwöchigen Abständen eine permanente Erhöhung von Testosteron- und Spermienkonzentration zu erhalten.
Zwei Gruppen von je sechs dysgammaglobulinämischen Tieren erhielten 10 bzw. 2 µg LHRH in 14tägigen Abständen.
In den Einzelverläufen der 10 µg und der 2 µg Gruppe zeigt sich in 14tägigen Abständen kein bemerkenswerter Anstieg oder Abfall der mittleren Testosteronkonzentration (Abb. 6 und 8).
Die mittleren Testosteronkonzentrationen der beiden Gruppen, 1093 $\pm$ 563 pg/ml bei der 10 µg und 840 $\pm$ 872 pg/ml bei der 2 µg-Gruppe unterscheiden sich nicht wesentlich (Abb. 10).
14 Tage nach der ersten LHRH-Injektion (1.7) steigt die mittlere Testosteronkonzentration bei 10 µg LHRH auf 1608 $\pm$ 801, während sie bei 2 µg auf 720 $\pm$ 716 pg/ml leicht absinkt ($p < 0,1$; Abb. 10).
Im weiteren Verlauf besteht zwischen beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied.

Da die Zeitspanne vom Beginn der Spermatogenese bis zum Nachweis der Spermien im Ejakulat 12 bis 16 Tage dauert, wurden Ergebnisse von Dichteuntersuchungen bei vier mit 10 µg und 5 mit 2 µg LHRH behandelten Tieren, die in diesen Zeitraum fielen, verglichen. Dabei kommt es sowohl bei den mit 10 als auch bei den mit 2 µg LHRH behandelten Tieren zu keiner erheblichen Veränderung der mittleren Spermakonzentration. Beide Verläufe unterscheiden sich an keinem Punkt signifikant voneinander (Abb. 7 und 9).
Bei zwei mit 10 µg und einem mit 2 µg behandelten Hähnen, die nicht in die Auswertung der Dichte mit einbezogen wurden, konnte sowohl vor als auch während der Behandlung kein Sperma gewonnen werden.

Abb.: 6

Serum-Testosteron Konzentration nach Verabreichung von 2µg LHRH bei dysgammaglobulinamischen Hahnen

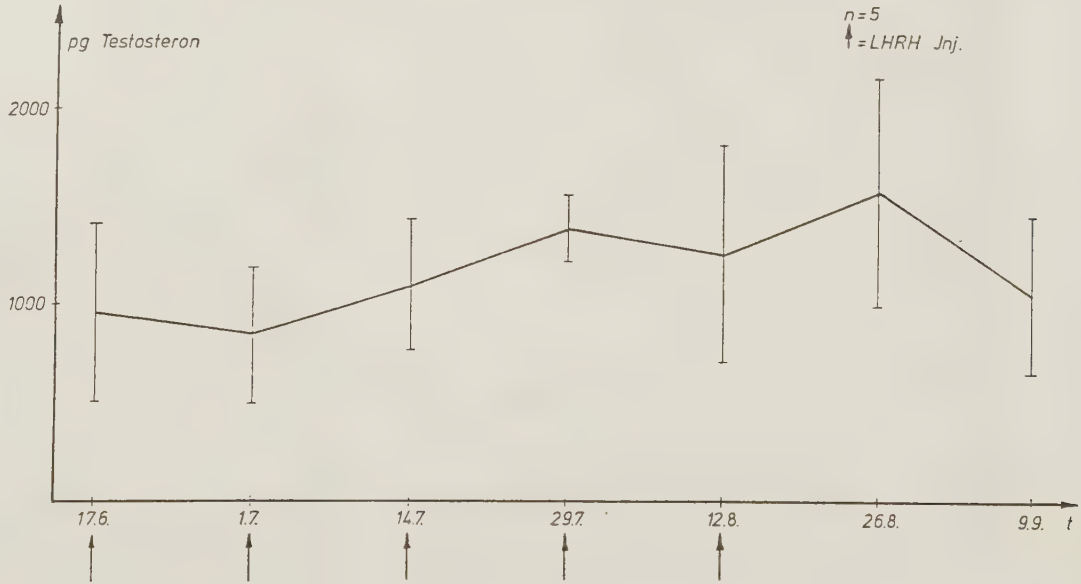


Abb.: 7

Dichte (Spermien/mm³) nach Verabreichung von 2µg LHRH bei dysgammaglobulinämischen Hähnen

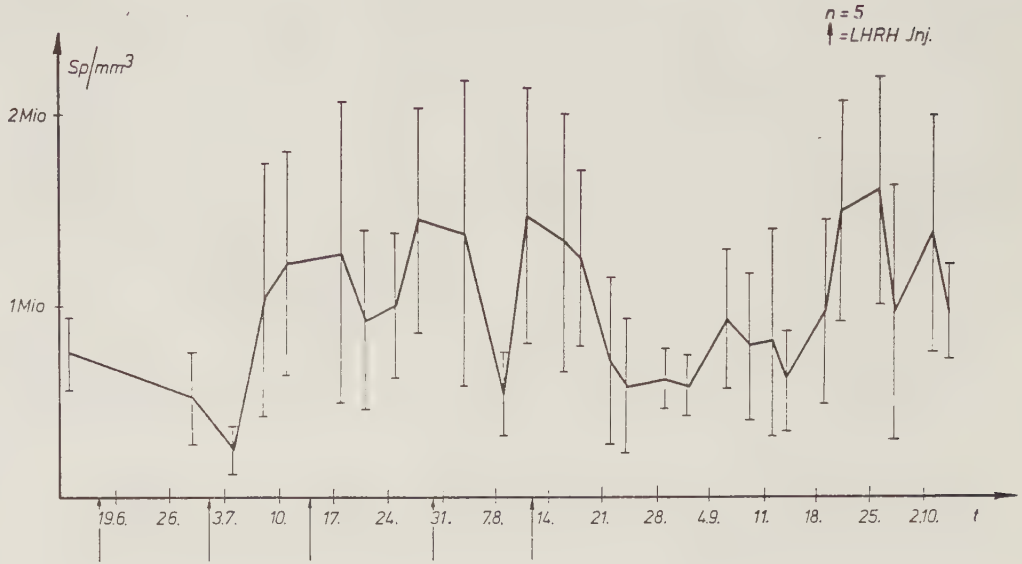


Abb.: 8

Serum-Testosteron Konzentration nach Verabreichung von 10µg LHRH bei dysgammaglobulinämischen Hähnen

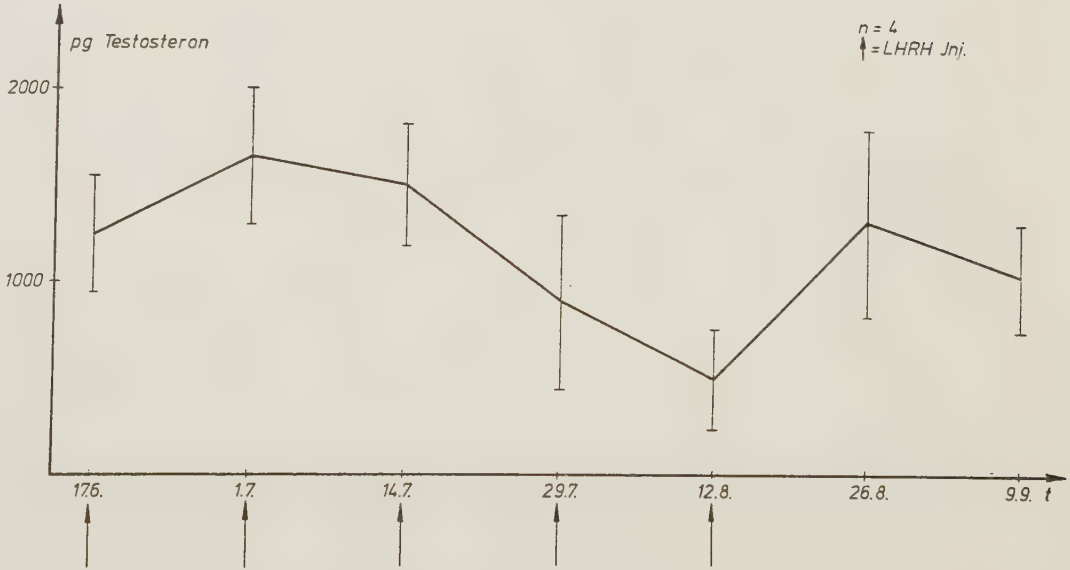


Abb.: 9 Dichte (Spermien / mm^3) nach Verabreichung von 10µg LHRH bei dysgammaglobulinämischen Hähnen

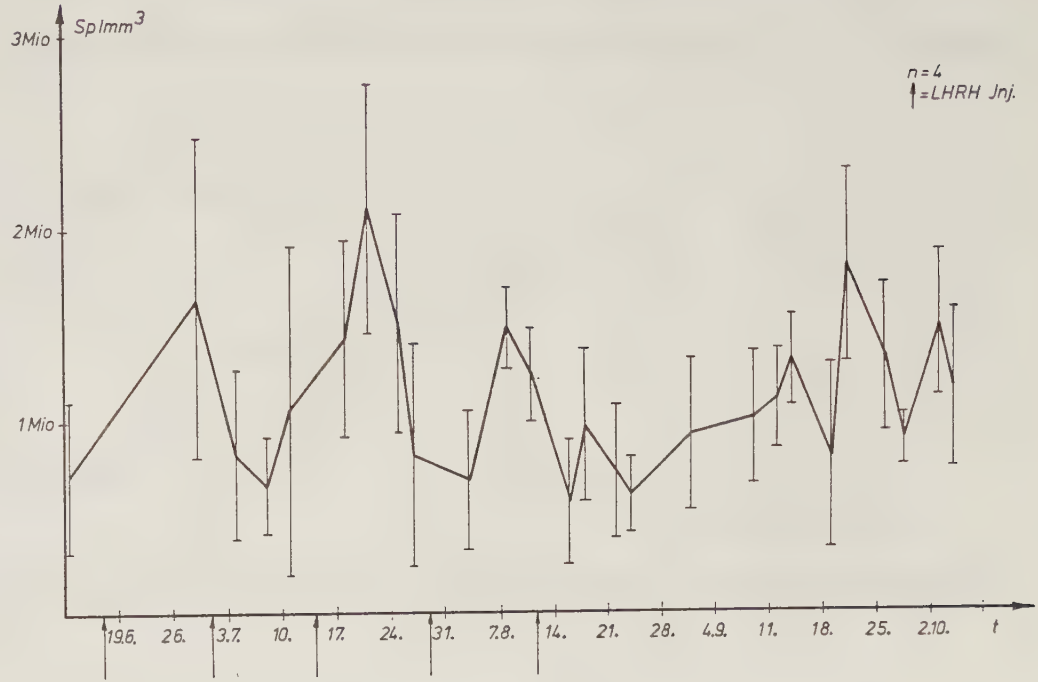
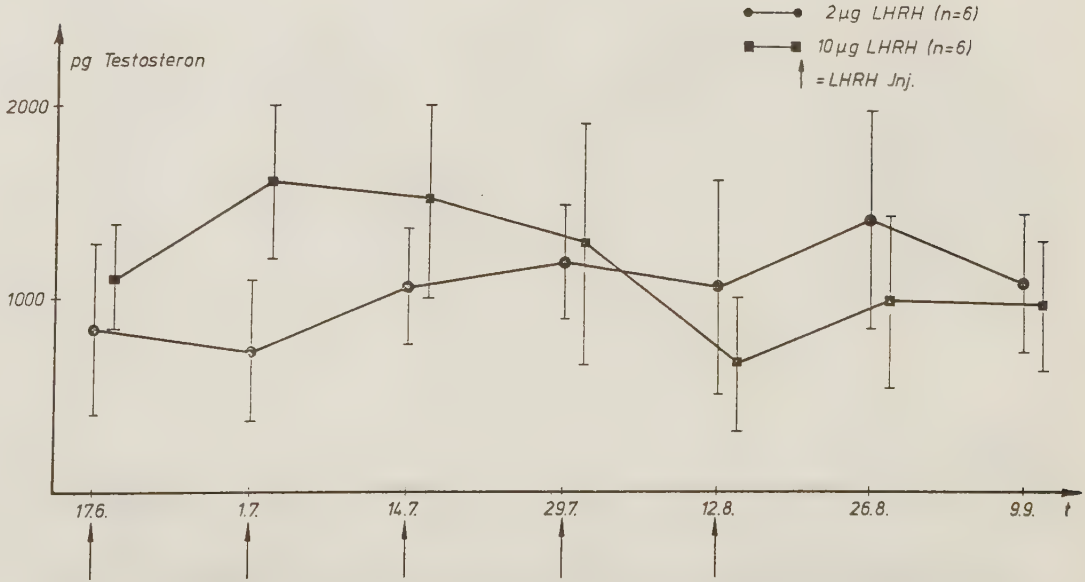


Abb.: 10

Serum-Testosteron Konzentration nach Verabreichung von 10 -und 2µg LHRH bei dysgammaglobulinämischen Hähnen



4.7. Serum-Testosteronkonzentrationen vor und nach 14tägiger Behandlung mit 2 µg LHRH (s. Abb. 11 - 13)

Der Einfluß von täglichen LHRH-Behandlungen auf die Reaktion der Hypophyse, sowie die Dauer der Wirkung einer einmaligen Gonadorelingabe sollte festgestellt werden.
Die Änderung der Testosteronkonzentration und die Hormonkonzentrationen bis zu 16 Tagen nach einmaliger intravenöser Verabreichung von 2 µg LHRH vor und nach 14tägiger Gonadorelingabe wurden verglichen.
Die Mittelwerte der Konzentrationen beider Verläufe wurden aus den bei beiden gemessenen Werten an Tag 1, 5, 8, 11, 14 und 16 p.i. gebildet.

Tier-Nr.	n	Testosteron (pg/ml) vor Behandlung $\bar{x} \pm SD$	Testosteron (pg/ml) nach Behandlung $\bar{x} \pm SD$	
2383	6	928 ± 603	663 ± 600	
2071	6	998 ± 522	1777 ± 934	
2377	5	496 ± 309	462 ± 361	
1873	6	859 ± 285	1068 ± 428	
1659	6	386 ± 271	461 ± 573	
2415	6	593 ± 379	39 ± 38	(Wert außerhalb RIA-Meßbereich)
2086	6	1017 ± 663	1123 ± 874	

n = Anzahl der Messungen
RIA = Radioimmunoassay

Die Werte unterscheiden sich mit Ausnahme derer des Hahns 2415 nicht signifikant.
Der Anstieg der Testosteronkonzentration nach einmaliger LHRH-Gabe wird durch die zweiwöchige Vorbehandlung nicht beeinflußt.

Abb.:11

Serum-Testosteron Konzentration vor und nach Verabreichung von LHRH

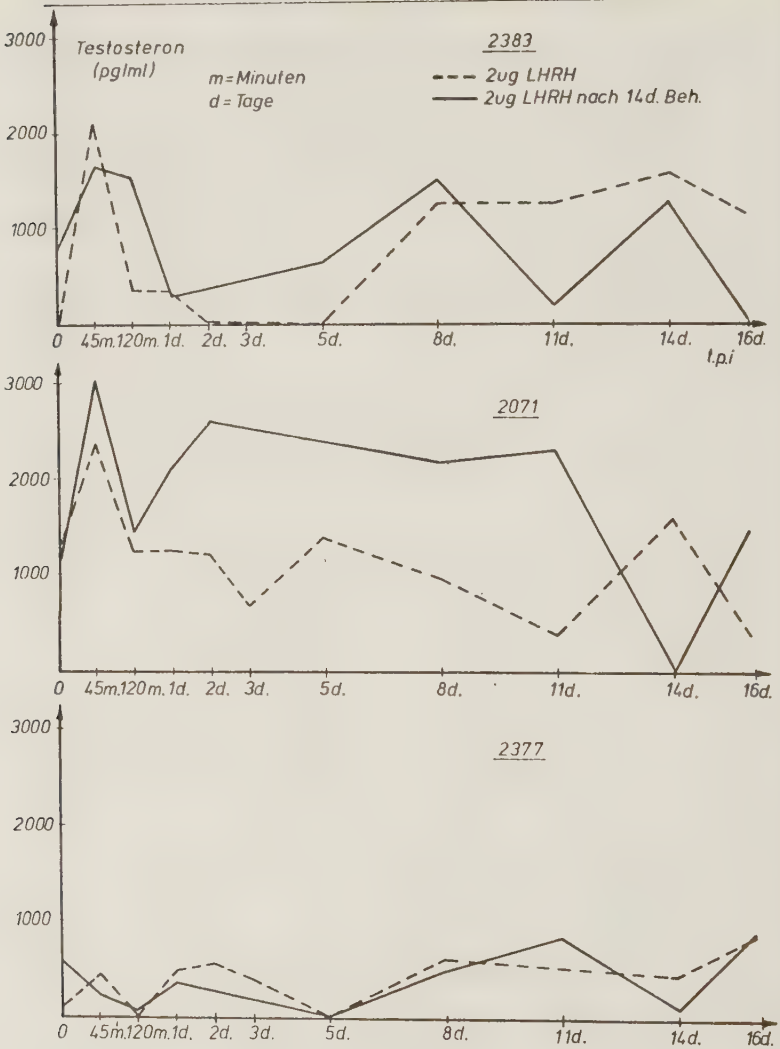
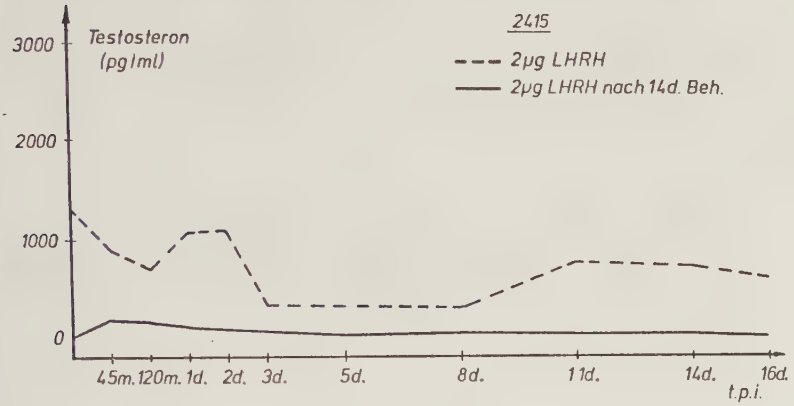


Abb.:12

Serum-Testosteron Konzentration vor und nach Verabreichung von LHRH



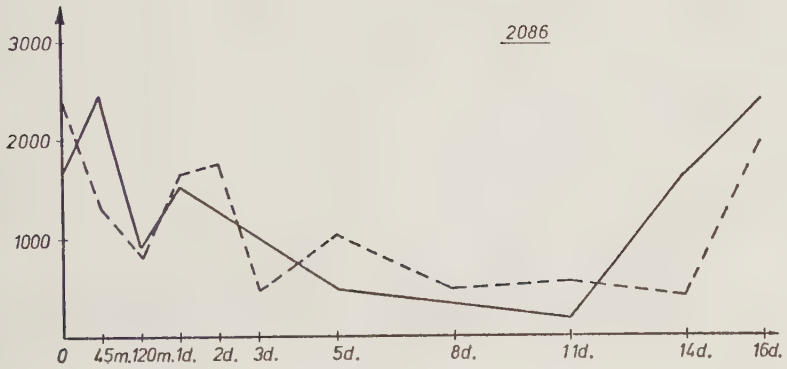
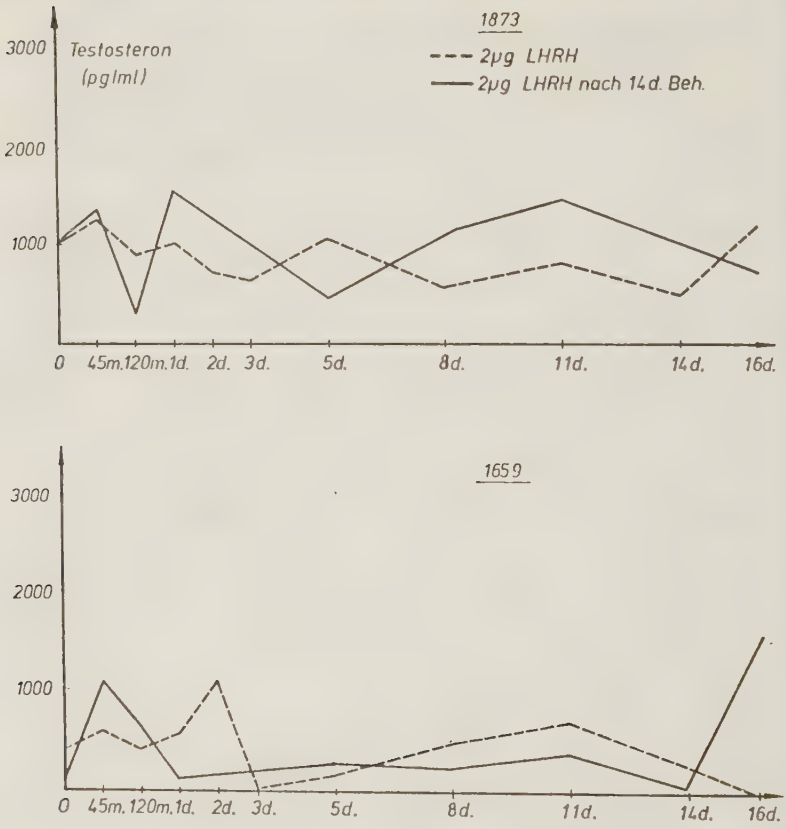


Abb.: 13

Serum-Testosteron Konzentration vor und nach Verabreichung von LHRH



Tier-Nr.	vor Behandlung Testosteron (pg/ml)			nach Behandlung Testosteron (pg/ml)		
	x			x		
	To	T45	± %	To	T45	± %
2383	54	2113	+3850	804	1676	+109
2071	1308	2385	+ 82	1137	3009	+165
2377	123	451	+ 267	597	238	- 60
1873	1024	1290	+ 30	1057	1391	+ 32
1659	419	593	+ 42	114	1090	+856
2415	1295	910	- 30	20	179	+795
2086	2425	1324	- 45	1649	2466	+ 50

TO - Testosteron vor Behandlung

T45 - Testosteron 45 Min. nach Behandlung

± % - Veränderung des Testosteronanstiegs

4.8. Tagesverlauf der Serum LH-Konzentrationen von dysgammaglobulinämischen Hähnen (s. Abb. 14 - 15)

Zur weiteren Überprüfung der Kompetenz der Hypophyse sowie des Funktionierens des negative feed-back Mechanismus wurden die mittleren LH-Spiegel von unbehandelten dysgammaglobulinämischen Hähnen ermittelt um diese mit Normwerten zu vergleichen.
Die mittleren LH-Konzentrationen der einzelnen Tiere in den zur gleichzeitigen Testosteronbestimmung in zweistündigen Abständen über 24 Stunden gewonnenen Blutproben betragen 8,60, 5.86, 7,82, 6,01 und 18,18 ng/ml (s. untenstehende Tabelle)

Tier-Nr.	n	LH (ng/ml) $\bar{x} \pm SD$	kleinste Abweichung von x in %	größte Abweichung von x in %
2377	8	8,60 ± 3,55	8,7	88,3
2124	11	5,86 ± 2,37	0,2	80,5
1767	7	7,82 ± 0,79	1,2	17,4
2086	8	6,01 ± 2,04	0,7	63,1
2383	8	18,18 ± 5,23	10,2	47,1

n = Anzahl untersuchte Proben/Tier

Die Einzelwerte flukturieren maximal von 17,4 bis 88,3% um die mittlere LH-Konzentration der Individuen.

Bei der Blutentnahme in halbstündigen Intervallen über vier Stunden (s. Abb. 16) betragen die Mittelwerte:

Tier Nr.	n	LH (ng/ml) $\bar{x} \pm SD$
2377	9	3,85 ± 1,18
2124	9	4,18 ± 1,14
1767	9	6,31 ± 1,01
2071	9	7,25 ± 7.45

Es sind sowohl während des 24-Stunden- als auch während des 4-Stundenverlaufs deutlich zeitabhängige LH-Konzentrationsschwankungen vorhanden.
Beim Vergleich des Testosteron- und LH-Verlaufs der einzelnen Tiere über 24 Stunden bestehen keine erkennbaren Zusammenhänge.
Die LH-Werte sind bei halbstündigen Entnahmeintervallen im Vergleich zu zweistündigen bei den Hähnen Nr. 1767 und 2124 mit 1,51 und 1,68 ng leicht, bei Tier Nr. 2377 mit 4,75 ng deutlich erniedrigt.

Abb. 14 Tagesverlauf der Serum-Testosteron und LH-Konzentration von dysgammaglobulinämischen Hähnen

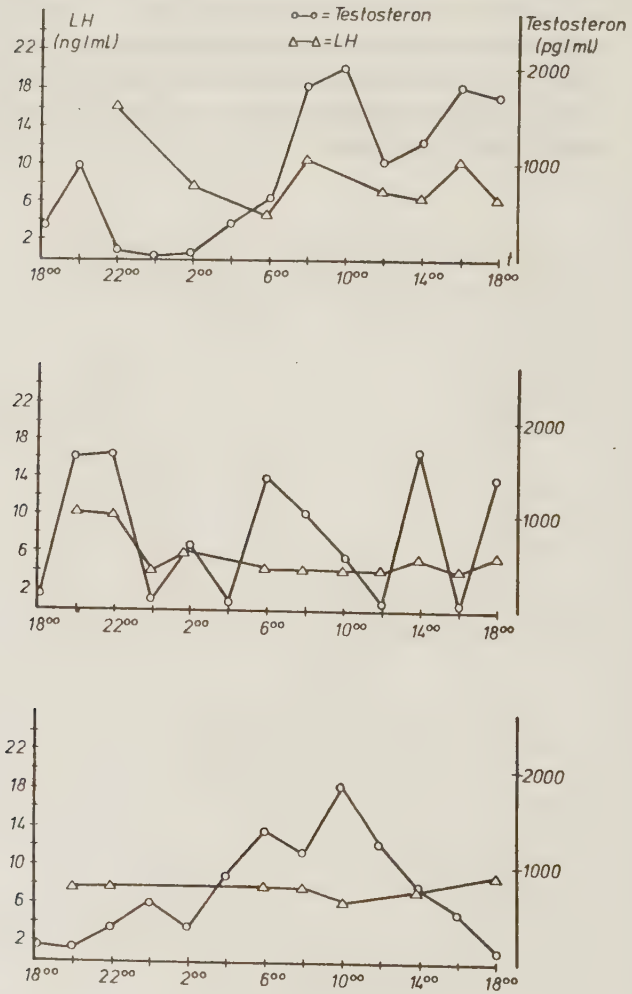


Abb.: 15 Fortsetzung von Abb. 14

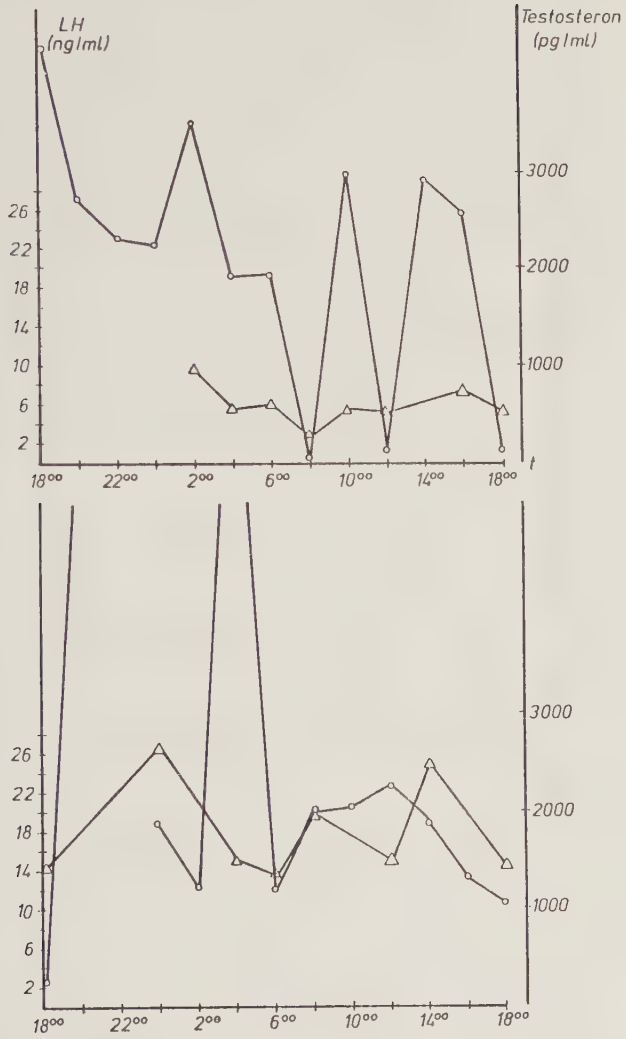
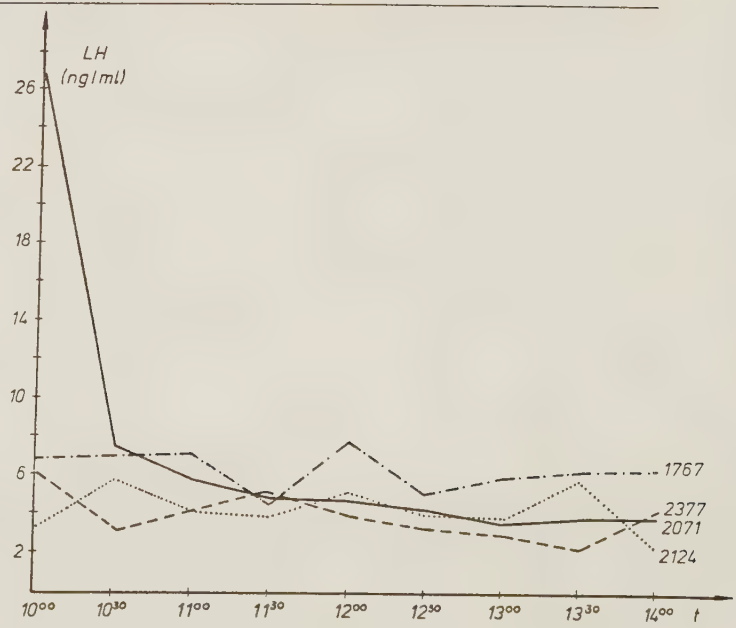


Abb.: 16

Serum-LH-Verlauf von dysgammaglobulinämischen Hähnen über vier Stunden



4.9. Verhalten

Um das Paarungsverhalten dysgammaglobulinämischer Hähne zu charakterisieren, wurden sieben Tiere an fünf folgenden Tagen für jeweils 20 Minuten mit Hennen zusammengesetzt und beobachtet. Die Versuchsanordnung und Kriterien zur Beurteilung des Verhaltens wurden in Anlehnung an die Versuche von WILSON, HAYNES and GLICK und CRAWFORD (s. 3.6.) gewählt.
Zwei Tiere, Nr. 2383 und 2086 ignorierten die Hennen. Bei Hahn 2373 wurde Balzen, bei 2071, 2511, 1873 und, wenig ausgeprägt bei 1767 Balzen und Paarungsversuche beobachtet, wobei das "Werben" um die Hennen in den ersten 10 Minuten am intensivsten war.
Nur ein Hahn, Nr. 2511 trat bei 5 Beobachtungsperioden einmal.

Tier-Nr.	Balzen	Paarungsversuch	Treten
1767	7	2	0
1873	9	12	0
2071	7	5	0
2086	0	0	0
2373	19	0	0
2383	0	0	0
2511	16	11	1

5. Diskussion

Die zunehmend schlechten Befruchtungsraten und die immer geringer werdende Anzahl fortpflanzungsfähiger, in der Zucht einsetzbarer Hähne der UMB19-Linie ließen eine Untersuchung der Ursachen der mangelhaften Fertilität der Tiere dieser Linie angebracht erscheinen.
Vor Beginn dieser Arbeit waren schon folgende Beobachtungen gemacht worden:
Die Befruchtungsergebnisse waren von Beginn der Zucht an niedrig und konnten durch Einführung von künstlicher Besamung nur geringfügig verbessert werden.
Insbesondere die dysgammaglobulinämischen Hähne der Linie zeigen ein reduziertes zum Teil auch überhaupt kein Paarungsverhalten, bzw. verlieren dieses im Alter von etwa 12 Monaten.
Bei der Sektion einzelner Hähne wurden wiederholt auffallend kleine Gonaden festgestellt.

In dieser Arbeit sollte durch Erfassung verschiedener Parameter bei einer möglichst großen Anzahl von Tieren diese mangelhafte Fertilität charakterisiert werden, um aus den gewonnenen Daten Hinweise auf die Ursachen zu erhalten.

Bei der Erfassung von Hodengewichten und -maßen zeigte sich eine Diskrepanz zwischen dysgammaglobulinämischen und Leghornhähnen.
Zwischen beiden Gruppen, die sich hinsichtlich des mittleren Körpergewichtes nicht signifikant unterscheiden, besteht eine signifikante Differenz zwischen den mittleren Gonadengewichten.
Es wurden nur die Gewichte verglichen, da diese den Unterschied objektiver als die Maße darstellen.
In diese Untersuchung wurden auch Hähne einer Mastrasse mit einbezogen, bei denen Gewichte und Maße noch deutlich höher sind als bei Leghornhähnen (s. Tab. 2, unten). Es muß nämlich

beim Vergleich dysgammaglobulinämischer mit Leghornhähnen berücksichtigt werden, daß die UM B19-Linie auch auf einen Broilerhahn zurückgeht.
Bei sechs Tieren wurde der linke Hoden zweimal im Abstand von vier, fünf und elf Monaten gemessen und keine Größenveränderung gefunden.
Es konnte keine Beziehung zwischen Organgewicht und Alter oder Körpergewicht der Tiere festgestellt werden.
Diese Befunde bestätigen das Vorliegen einer Hodenhypoplasie bei dysgammaglobulinämischen Hähnen der UMB19-Linie.

Histologische Untersuchungen zeigten, daß aktiv Spermien produziert werden. Es wurden nur einzelne Schnitte begutachtet; eine systematische histometrische Auswertung erfolgte nicht. Von drei Tieren, bei denen keine Spermagewinnung möglich war, hatten zwei herdförmige Keimepithelatrophien, ein Tier wies keine Veränderungen auf.

Die Untersuchung der Spermaqualität erfolgte nach den Richtlinien des Untersuchungsgangs bei Haussäugetieren des hiesigen Lehrstuhls für Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung, insbesondere Andrologie und künstliche Besamung. Die Methoden wurden zum Teil nach Angaben aus der Literatur modifiziert.
Das Volumen der Ejakulate liegt an der Untergrenze der in der Literatur angegebenen Werte. Bei Leghornhähnen wurden jedoch ähnlich niedrige Volumina gemessen. Dies ist auf die Methode des Absamens zurückzuführen, bei der bewußt kein Auspressen der Lymphflüssigkeit erfolgte, um die Spermadichte nicht zu beeinflussen. Es ist auch fraglich, ob bei der Paarung eine vergleichbare Menge Flüssigkeit der Spermaphase beigemischt wird und ob dies einen günstigen Effekt auf die Spermien hat (LAKE, 1956; NISHIYAMA, 1955).
Die Untersuchung der Motilität wurde mit Hilfe eines 40°C warmen Heiztisches durchgeführt, da nach SCHINDLER und NEVO (1962) die Motilität von Geflügelspermien bei dieser Temperatur optimal sein soll. COOPER und ROWELL (1958) sowie andere Untersucher beurteilten die Motilität mit einer Einteilung in Grade von 0 bis 4.

Sie ermittelten bei roten Rhodeländern Werte von 2,3 bis 4. Der Mittelwert von 24 Tieren, die achtmal untersucht wurden, lag bei 3,3 (83%).
BROWN und HARRIS (1963) fanden bei Versuchen mit Verdünnern bei Leghornhähnen und derselben Einteilung Werte von 2 bis 3 (50 - 75%) wobei mit Sperma aus der Beurteilung "3" 100% der Eier fertilisiert wurden.
SOLLER et al. (1965) untersuchten die Motilität bei White Rock- und Cornishhähnen; die Motilität wurde in Grade von 0 bis 7 eingeteilt. White Rock hatten eine mittlere Motilität von 3,8 (54%), Cornish von 5 (71%).
Die Schwierigkeit bei der Beurteilung liegt darin, daß keine einheitlichen Werte angegeben werden. Auch die Temperatur, die bei der Schätzung erfolgte, wird von den Autoren nicht erwähnt.
Bei der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchung erzielten Leghornhähne einen Mittelwert von 72%, normogammaglobulinämische Hähne von 62% und dysgammaglobulinämische von 64%, wobei zwei Tiere mit herausragend schlechter Motilität nicht berücksichtigt sind, Hahn 2071, mit 19,9% und 1831 mit 15,4%. Ersterer hat gleichzeitig eine hohe Anzahl mißgebildeter Spermien; beide haben einen hohen pH-Wert von 7,5.
Die Motilität ist bei der Mehrzahl der Tiere im Vergleich zu Leghornhähnen und den in der Literatur angegebenen Werten nur geringgradig reduziert.

Für die Beurteilung des Verhältnisses lebender zu toten Spermien und die Anzahl von Mißbildungen wurde die Färbemethode nach COOPER und ROWELL (1958) verwendet. Diese fanden bei einer Gruppe Rhodelanderhähne einen Mittelwert von 50,5% angefärbten, d.h. toten Spermien. MARTINI und GOODMAN (1969) fanden bei Untersuchungen mit derselben Methode, jedoch mit einem Zusatz von 2,5% Natriumzitrat in der Färbelösung bei einer langsam wachsenden Linie 12,2% tote Spermien, bei einer schnellwüchsigen 28,4%.

Obwohl aufgrund dieser Ergebnisse bei der angewendeten Färbemethode eher niedrigere Werte zu erwarten gewesen wären, hatten dysgammaglobulinämische Hähne einen Mittelwert von nur 17,4% angefärbten Spermien.
Nach LAKE (1974) sollen in einem guten Ausstrich 86 - 95% der Spermien ungefärbt und morphologisch unverändert sein. Er benutzt eine Nigrosin-Eosinfärbung, die ebenfalls einen Natriumzitratzusatz enthält. Hinsichtlich der Anzahl mißgebildeter Spermien liegen sechs von sieben untersuchten dysgammaglobulinämische Hähne in diesem Bereich. Nur ein Tier hat eine mittlere Anzahl von 42% mißgebildeter Spermien, wobei ein Großteil auf Kopfmißbildungen entfällt.
Auch aus diesen Befunden ergibt sich kein Hinweis auf die Ursache des Defektes.

Signifikante Unterschiede zwischen dysgammaglobulinämischen und sowohl Leghorn- wie auch normogammaglobulinämischen Hähnen ergeben sich jedoch hinsichtlich der Spermadichte.
Nur zwei von sieben untersuchten dysgammaglobulinämischen Hähnen erreichen Mittelwerte von über eine Million pro mm^3, wobei ein Tier mit 2.290.000 im Normbereich liegt. Das Mittel der übrigen Hähne beträgt bei 42 Messungen 803 000/mm^3. In der Literatur werden zum Teil wesentlich höhere, mittlere Anzahlen Spermien pro mm^3 (von 2,3 - 7 Millionen/mm^3) angegeben.
Nach PARKER et al. (1942) ist ein Minimum von 100 Millionen Spermien pro mm^3 für optimale Fertilität bei künstlicher Besamung notwendig, die in 0,03 ml Sperma vorhanden sein sollen. Bei einem zur künstlichen Besamung üblichen Volumen von 0,1 ml werden also bei dysgammaglobulinämischen Hähnen mit einer mittleren Dichte von 160.000 bis 930.000 Millionen Spermien pro mm^3 nur zwischen 16 und 80 Millionen inseminiert, was unterhalb dieser Grenze liegt.
Da die Dichte relativ großen Schwankungen unterliegt, sind die Werte bei einzelnen Ejakulaten wesentlich niedriger.
Demnach liegt bei dysgammaglobulinämischen Hähnen eine Hypozoospermie vor, die für die auch bei künstlicher Besamung niedrigen Befruchtungsergebnisse verantwortlich sein könnte.

Es stellt sich jetzt die Frage, ob die Gonadenhypoplasie und die Hypozoospermie der dysgammaglobulinämischen Hähne mit entsprechend erniedrigten Testosteronspiegeln einhergehen. (Aus Tab. 1, 3 und 41 sind entsprechende Meßergebnisse zu entnehmen).

MASHALY und GLICK (1978) vergleichen die Androgenspiegel von am dritten Entwicklungstag mit Testosteronpropionat behandelten Hähnen mit denen von unbehandelten Kontrolltieren.
Das Tauchen der Eier, das die Entwicklung der Bursa fabricii hemmt, führt bei geschlechtsreifen männlichen Tieren zu fehlendem Paarungsverhalten. Durch die Behandlung wird der Nucleus praeopticus paraventricularis magnocellularis im Hypothalamus beeinflußt (CRAWFORD and GLICK, 1975). Bei von MASHALI und GLICK untersuchten Tieren ist das Gonadengewicht im Vergleich zu Kontrolltieren signifikant erniedrigt. Hinsichtlich des Kammwachstums besteht kein Unterschied.
Die mittlere Testosteronkonzentration war bei 16, 20 und 24 Wochen alten Tieren signifikant erniedrigt; im Alter von 24 Wochen hatten Testosteronpropionat (TP) behandelte Tiere einen Wert von 73,4 pg/ml, Kontrollen einen solchen von 1935,9 pg/ml.
Die Dihydrotestosteronkonzentration war bei den beiden Gruppen vergleichbar, bei 24 Wochen alten Kontrollen signifikant höher als bei TP-Tieren. Daraus wurden folgende Schlußfolgerungen gezogen:
Obwohl Testosteronwerte bei TP-Tieren niedriger als bei Kontrollen sind, reicht die zirkulierende Hormonmenge aus, um auch bei diesen Hähnen gleiches Kammwachstum zu bewirken, oder aber die Dihydrotestosteronkonzentration ist dabei von größerer Wichtigkeit.
Die niedrigen zirkulierenden Testosteronmengen sollen nicht die direkte Ursache des reduzierten Paarungsverhaltens sein, da Testosteroninjektionen bei Kontrollen, nicht aber bei TP-Tieren das Paarungsverhalten stimulieren konnte (WILSON and GLICK, 1970; HAYNES and GLICK, 1974). Entweder soll der Schwellenwert für Testosteron am Hypothalamus erhöht sein, oder die zirkulie-

renden Androgenmengen erreichen den Nucleus praeopticus paraventricularis nicht. Dafür spricht, daß das Einsetzen von Testosteronpropionat enthaltenden Kanülen in diese Gegend das Paarungsverhalten von TP-Tieren stimulieren konnte (CRAWFORD and GLICK, 1975).

Um das sexualspezifische Verhalten der dysgammaglobulinämischen Tiere zu prüfen, wurden sieben Hähne, die nach einer Angewöhnungszeit an fünf aufeinander folgenden Tagen je 20 Minuten mit Hennen zusammengesetzt und beobachtet.
Zwei Tiere ignorierten die Hennen, fünf zeigten ein (bei zwei Hähnen besonders ausgeprägtes) Balzverhalten. Paarungsversuche wurden von vier Tieren gemacht. Nur ein Hahn trat einmal. Dieses Verhalten ähnelt dem des von GLICK (1966) bei TP-Tieren beobachteten.

Bei der Messung der Testosteronkonzentrationen im Serum dysgammaglobulinämischer und Leghorn-Hähne, wurde deutlich, daß die Hormonkonzentration im Verlauf von 24 Stunden starken Schwankungen unterworfen ist und zum Teil auf mit dem Radioimmunoassay nicht mehr meßbare Werte abfällt.
So ist die Messung von Einzelwerten bei den relativ wenigen zur Verfügung stehenden Tieren nicht für die Gruppe repräsentativ. Deshalb wurden zur Bestimmung der mittleren Testosteronkonzentration bei Einzeltieren Messungen über 24 Stunden vorgenommen.
Die Venenpunktion wurde alle zwei Stunden vorgenommen.
Dies war bei den häufigen Blutentnahmen der kürzeste technisch durchführbare Zeitabstand. Auch sinken bei halbstündigen Entnahmeintervallen, sowie bei Blutentnahmen mit Kanüle nach Beobachtungen von WILSON and SHARP (1974) die LH-Konzentrationen im Serum. So würden bei kürzeren Zeitabständen zwischen den Blutentnahmen auch die Testosteronwerte niedriger ausfallen.
Es ergaben sich mit einer Ausnahme bei den einzelnen Tieren mittlere Testosteron-Werte von < 100 bis 943 pg/ml. Diese Werte liegen deutlich unter den von verschiedenen Untersuchern ange-

gebenen Mittelwerten von 2400 bis 9500 pg/ml.
SCHRÖCKSNADEL (1971) gibt für 12 Monate alte Leghornhähne 2400, für 6 Monate alte 1200 pg/ml an.
Diese Untersucher führten die einzelnen Messungen in größeren Abständen durch und machen keine Angaben über den Zeitpunkt der Blutentnahme. Ihnen stand jedoch eine größere Anzahl von Tieren zur Verfügung, was die Ermittlung einer durchschnittlichen Konzentration erleichtert.
Bei sieben, relativ kurze Zeit vor der Blutentnahme erworbenen Leghornzuchthähnen war die Angewöhungszeit an die neue Umgebung kurz; durch die häufigen ungewohnten Blutentnahmen wurden die Tiere zusätzlichem Streß ausgesetzt.
Die Testosteronkonzentrationen waren so niedrig, daß sie außerhalb des Meßbereichs des RIA lagen (<100 pg/ml).
Bei drei Leghornhähnen, die einige Monate mit den UM B19-Tieren zusammen gehalten worden waren, wurde die Testosteronkonzentration von 18.00 - 16.00 gemessen. Bei einem Tier, das sich während der Untersuchung stark erregte, fiel Testosteron nach der ersten Entnahme so ab, daß auch hier eine Messung nicht mehr möglich war.
MASHALI und GLICK (1979) vermuteten als Ursache der Reduktion des Gonadengewichtes und der Menge zirkulierenden Testosterons bei Testosteronpropionat behandelten Tieren (im folgenden Text als TP-Tiere bezeichnet) eine herabgesetzte Gonadotropinsekretion der Hypophyse.
TAYLOR und GLICK (1983) überprüften die Funktion der Hypophyse indem sie ihre Aktivität durch die folgenden Untersuchungen maßen:
Vier Wochen und 20 Wochen alten TP- und Kontrolltieren wurden 10 µg GnRH, in einem anderen Versuch 2 µg ovines LH injiziert.
50 Wochen alte TP- und Kontrolltieren wurden mit 2 und 10 µg LHRH behandelt.
Gemessen wurde der Anstieg von Testosteron und Dehydrotestosteron, bzw. LH nach LHRH Injektion bei 50 Wochen alten Tieren.
TP, wie Kontrollen, reagierten mit Testosteronanstiegen auf Injektion von 10 µg LHRH, wobei die Ausgangskonzentration bei 20 Wochen alten TP-Tieren signifikant niedriger als bei Kontrollen

waren. Der Testosteronanstieg auf ovines LH war bei Kontrollen höher als bei TP-Tieren.
Dihydrotestosteronkonzentrationen unterschieden sich vor und nach Behandlung bei TP und Kontrollen nicht signifikant, nur nach Verabreichung von LHRH bei 20 Wochen alten Tieren stieg Dihydrotestosteron bei TP, während es bei Kontrollen abfiel.
LH-Konzentrationen waren bei beiden Gruppen 50 Wochen alter Tiere vergleichbar; 2 µg LHRH bewirkte nach 10 Minuten bei beiden Gruppen einen stärkeren Anstieg als 10 µg LHRH.
Daraus wurden folgende Schlüsse gezogen. Die Hypophyse reagiert bei TP-Tieren auf Releasing Hormon-Gabe mit LH-Ausschüttung. Die hypophysäre Kompetenz wird auch durch die Testosteronausschüttung nach LHRH-Gabe bewiesen. Bei TP-Tieren besteht keine Störung des negative feedback Systems von Testosteron auf LH. Offenbar wird die negative Rückkopplung zum Teil von Dihydrotestosteron geregelt. Die Reaktion auf ovines LH, das nach FOLLET (1977) 60% der Wirksamkeit von Vogel-LH hat, ist bei TP-Tieren im Vergleich zu Kontrollen erniedrigt.
Es ist möglich, daß eine erniedrigte Anzahl von Rezeptoren, bzw. ihre geringere Affinität oder Avidität bei TP-Tieren diesen Unterschied in der Reaktion auf ovines LH vergrößert.

Bei dysgammaglobulinämischen Hähnen wurde die Fähigkeit der Hypophyse auf LHRH Gabe duch Messung der Tesosteronkonzentration im Serum festgestellt. Als Kontrolle dienten dabei normogammaglobulinämische Tiere.
Die mittlere Ausgangskonzentration vor LHRH-Gabe bei 15 dysgammaglobulinämischen Hähnen war mit 1001 pg/ml signifikant niedriger als bei 7 normogammaglobulinämischen mit 2721 pg/ml.
In dem Versuch von TAYLOR und GLICK (1983) betrug die mittlere Ausgangskonzentration von 7 Kontrolltieren etwa 1900 pg/ml.
Dysgammaglobulinämische Tiere reagierten mit einem Testosteronanstieg 90 Min nach der Verabreichung von 2 bzw. 10 µg LHRH, wobei der Anstieg in Prozent bei 2 µg mit 133% höher ist als der bei 10 µg mit 84%.
Bei den Kontrollen, die eine hohe mittlere Ausgangskonzentration hatten, fand kein signifikanter Anstieg statt. Offenbar

ist der Anstieg um so deutlicher, je niedriger die Ausgangskonzentration ist.
Dies zeigt eindeutig, daß bei dysgammaglobulinämischen Hähnen die Hypophyse auf LHRH reagiert.
Bei der Spermauntersuchung fiel bei 2 normo- und 3 dysgammaglobulinämischen Tieren auf, daß 2 Wochen nach Gabe von 10 µg LHRH die Dichte erhöht war und nach 3 Wochen wieder abfiel.
Zur Überprüfung der Wiederholbarkeit dieses Zufallsbefundes wurden zwei Gruppen dysgammaglobulinämischer Hähne mit je 2 und 10 µg LHRH in zweiwöchigen Abständen behandelt. Mittlere Testosteronkonzentration und Spermadichte wurden durch die Behandlung nicht beeinflußt (s. Abb.6-12).

Bei Rhesusaffen, die in der Periode sexueller Ruhe reduzierte hypophysäre Aktivität und verringerte testikuläre Funktionen aufweisen, was wahrscheinlich durch Herabsetzung der Aktivität des Hypothalamus bedingt ist, kann durch tägliche Releasing-Hormon-Gaben hypophysäre und testikuläre Funktion teilweise stimuliert werden (WICKINGS et al. 1981).
Zur Überprüfung der LHRH Wirkung wurde den dysgammaglobulinämischen Hähnen die offenbar stärker wirksame Dosis von 2 µg LHRH subcutan verabreicht. Die Reaktion der Hypophyse wurde durch die Messung der Testosteronkonzentration nach einmaliger intravenöser Gabe von 2 µg LHRH vor und nach dieser Behandlung überprüft.
Die mittlere Testosteronkonzentration und die Reaktion der Hypophyse auf Stimulation mit LHRH wurden weder positiv noch negativ beeinflußt.

LH-Mittelwerte wurden, wie bei Ermittlung der Testosteronwerte aus den Ergebnissen mehrerer Messungen während eines Zeitraums von 24 Stunden gebildet.
Die mittlere Hormonkonzentration lag zwischen 6,01 bis 18,8 µg. Diese Werte liegen im Bereich der in der Literatur angegebenen Daten von 10,3 bis 12,2 µg/ml (CULBERT et al., 1977) und 7 - 17 µg/ml (WILSON and SHARP, 1975).

Bei Blutentnahmen in halbstündigen Abständen waren Mittelwerte und Schwankungen um diese Werte erniedrigt.
Auch dieser Befund spricht für die Kompetenz der Hypophyse bei den untersuchten Tieren sowie eine ausreichende GnRH-Freisetzung des Hypothalamus.
Zwischen dysgammaglobulinämischen und im Embryonalstadium mit Testosteronpropionat behandelten Hähnen bestehen Parallelen. Gemeinsam ist beiden die mangelhafte Ausprägung des Paarungsverhaltens.
Diesbezüglich werden über TP-Hähne verschiedene Aussagen gemacht.
GLICK (1966) beschreibt zunächst 8 Tiere, von denen 2 Tiere Balzverhalten zeigten, ein Tier trat, die restlichen ignorierten Hennen oder kämpften mit ihnen.
In WILSON und GLICK (1970) zeigen TP-Hähne keinerlei Paarungsverhalten; bei CRAWFORD und GLICK (1973) zeigen TP-Tiere signifikant weniger Paarungsverhalten als Kontrollen.
MASHALI und GLICK (1978) beschreiben, daß kein Tier Paarungsversuche macht.
Dysgammaglobulinämische UMB 19 Hähne zeigen aufgrund von Beobachtungen am Gesamtbestand über längere Zeit, im Rahmen dieser Arbeit an einer Gruppe von sieben Tieren dargestellt:

1. Hähne, die weder balzen noch treten und auch meist nicht abgesamt werden können.
2. Hähne, die balzen und Paarungsversuche machen, jedoch nicht treten. Diese reagieren meist auf den Stimulus beim Absamen.
3. Hähne, die normales Verhalten zeigen, also sowohl balzen als auch treten.

Letztere sind in der Minderzahl. Bei der in dieser Arbeit zunächst durchgeführten Spermauntersuchung zeigte sich die Schwierigkeit, überhaupt dysgammaglobulinämische Hähne zu finden, bei denen Spermagewinnung möglich war. Diese Tiere zeigten bei konventioneller Haltung auch kein Paarungsverhalten.
Bei drei solcher Tiere, Nr. 2004, 2025, 2104 wurde jedoch in der histologischen Untersuchung Spermatogeneseaktivität festgestellt.

Dies spricht auch in Verbindung mit der - wenn auch nicht optimalen - Verbesserung der Befruchtungsergebnisse durch künstliche Besamung dafür, daß die reduzierte Fertilität nicht nur auf die festgestellte Hypozoospermie, sondern auch auf eine Störung des Paarungsverhaltens zurückzuführen ist.
GARDENER und FISHER (1968) und BARFIELD (1969) zeigten durch Implantation von Testosteron in die Gegend des Nucleus opticus, das bei Küken, Hähnen und Kapaunen Kopulation, jedoch nicht Balzen stimulierte, die Testosteronabhängigkeit dieses Verhaltens.
ZIGMOND (1972) sowie andere Untersucher demonstrierten, daß bei verschiedenen Vogelrassen Testosteron in der Gegend des Nucleus praeopticus selektiv aufgenommen und retiniert wird. Diese Beobachtungen unterstützen die Annahmen, daß steigende Androgenlevel bei Erreichen der Geschlechtsreife auf das Gehirn wirken und das Paarungsverhalten induzieren.
CRAWRORD und GLICK (1975) zeigten, daß durch Implantation von Testosteronpropionat in den Nucleus praeopticus paraventricularis magnocellularis (PPM) das Paarungsverhalten sowohl bei Kontrollen als auch bei TP-Hähnen stimuliert werden kann.
MASHALI und GLICK (1978) stellen drei Theorien über die Ursache des verminderten Paarungsverhaltens bei TP-Tieren auf, die auch für die dysgammaglobulinämischen Hähne in Betracht gezogen werden müssen:

Eine Barrieretheorie: Testosteron erreicht die PPM-Nuclei nicht.
Eine Schwellenwerttheorie: Es besteht ein erhöhter Schwellenwert für Testosteron am PPM.
Eine Konzentrationstheorie: Niedrige zirkulierende Testosteronmengen sind Ursache des gestörten Verhaltens.

Diese dritte Theorie wird von den Untersuchern als unwahrscheinlich verworfen, da Injektionen von Testosteronpropionat wohl bei Kontrollen, nicht aber bei TP-Tieren stimulierend wirken.

Bei den dysgammaglobulinämischen Tieren sprechen einzelne Befunde dagegen, daß das Paarungsverhalten allein vom Testosteron abhängig ist:
Die Hähne 2086 und 2383 haben hohe mittlere Testosteronkonzentrationen von 2162 und 1531 pg/ml (letzterer wurde bei der Auswertung der Tagesverläufe wegen eines Meßfehlers zu Beginn der Untersuchung nicht berücksichtigt). Beide Hähne zeigen weder Balz- noch Paarungsverhalten.
Tier 2233, das beim Tagesverlauf Testosteron-Werte unter 100 pg aufwies, hat laut Zuchtbuch bei konventioneller Haltung Befruchtungsraten von ungefähr 40 bis 50%.
Dieser Befund soll durch eine Testosteronbehandlung bei dysgammaglobulinämischen Hähnen überprüft und objektiviert werden.
Die Reaktion auf Stimulierung mit LHRH, die hohen LH-Spiegel bei unbehandelten Hähnen, sowie die Unbeeinflußbarkeit der Hypophyse durch über längere Zeit durchgeführte LHRH-Behandlung sprechen gegen einen Defekt am Hypophysen/Hypothalamus System.

MASHALI und GLICK (1978) vermuten in den bei den TP-Tieren im Vergleich zu Kontrollen nierigen Gonadengewichten die Ursache der niedrigen Testosteronkonzentration.
In TAYLOR und GLICK (1983) wird in Betracht gezogen, daß neben einer erniedrigten Rezeptorenkonzentration auch verringerte Affinität/Avidität oder ein höherer Umsatz von Testosteron zu Dihyrotestosteron Ursache der niedrigen Testosteronlevel sein könnten.
Es fällt bei dieser Untersuchung auf, daß bei 20 Wochen alten TP-Tieren Testosteron durch Injektion von 10 µg LHRH von einem Mittelwert von 500 pg/ml auf 3000 pg/ml erhöht werden konnte. Bei dysgammaglobulinämischen Hähnen konnten nur in wenigen Fällen durch Stimulation der Hypophyse derartig hohe Werte erreicht werden: Bei einer Gruppe von fünf Tieren, bei der zufällig vier Tiere mit einem recht hohen Testosteronausgangswert zu einer Gruppe zusammengefaßt worden waren, konnte die Konzentration von 1855 auf 2854 pg/ml gesteigert werden. Bei der Stimulation mit 2 µg LHRH erreichte von sieben Hähnen ein Tier einen

Wert von beinahe 3000, zwei stiegen über 2000 pg/ml. Alle anderen lagen 45 Minuten nach LHRH-Gabe deutlich unter 2000 pg/ml (s. Abb.4).

Zwischen Gonadengröße und mittlerer Testosteronkonzentration wird aufgrund von einzelnen Befunden kein Zusammenhang deutlich. Nur bei dem Hahn Nr. 2233, dessen Gonadengewichte 1,9 und 2,9 g betragen, liegen gleichzeitig stark erniedrigte Testosteronwerte vor.

Die Hähne Nr. 2071 (11 Mo), 1767 (17 Mo) und 2377 (5 Mo) haben recht unterschiedliche Hodenabmessungen von 3,6x1,6, 3,2x1,5, und 2,6x1,5, dabei aber mittlere Testosteronkonzentrationen von 884, 721 und 943 pg/ml, die sich nicht signifikant unterscheiden.

Eine Objektivierung der Beziehung Rezeptorenkonzentration/Organgewicht müßte durch Bestimmung ihrer Konzentration gemacht werden.

Gegen die Vermutung, daß zwischen reduzierten Gonadengewichten und der festgestellten Hypozoospermie ein Zusammenhang bestehe, sprechen die folgenden Befunde:

Während Hahn 1831 die niedrigste festgestellte mittlere Anzahl Spermien/mm³ von 160.000 hat und das Gewicht des linken Hoden 1,6 g betrug, hat Hahn 1861 bei einem gemessenen Gewicht von 1,4 g eine relativ hohe mittlere Dichte von 1.660.000 Sp./mm³. Bei Hahn 2025, der eine niedrige mittlere Anzahl von 930.000/mm³ hat, wurden bei den Gonaden Gewichte von 5 und 6 g festgestellt.

Bei weiteren Hähnen, bei denen beide Untersuchungen durchgeführt wurden, sind nur die Maße der linken Hoden bekannt. 1767 und 1861 haben mittlere Dichte von 2.290.000 und 860.000, dabei jedoch identische Maße von 3,2 x 1,5 cm.

Die Tiere 1973 und 2071 mit relativ großen Abmessungen von 3,6x1,7 und 3,6x1,6 cm haben niedrige Spermienzahlen pro mm³ - 710.000 und 500.000. Bei der stichprobenhaften histologischen Untersuchung wurden bei 2 von 3 Tieren die nicht abgesamt werden konnten, herdförmige Keimepithelatrophien gefunden.

Hier könnte evtl. eine objektive Aussage durch Auswertung von Spermiogrammen gemacht werden.

Es ist wahrscheinlich, daß eine geringe Testosteronsynthese ursächlich an der verringerten Spermatogenesekativität beteiligt ist, da neben FSH auch hohe lokale Testosteronkonzentrationen zur Initiierung und Aufrechterhaltung der Spermatogenese nötig sind.
Die Ursache der mangelhaften Fertilität der dysgammaglobulinämischen Hähne der UM B19- Linie ist bei konventioneller Haltung und Zucht das reduzierte, bzw. nicht vorhandene Paarungsverhalten.
Die niedrigen Befruchtungsraten bei künstlicher Besamung müssen auf die festgestellte Hypozoospermie zurückgeführt werden.
Trotz niedriger Testosteronspiegel weisen die Untersuchungsergebnisse auf eine normale GnRH- und LH-Freisetzung und damit auf einen funktionierenden Rückkopplungsmechanismus hin.
Inwiefern niedrige Testosteronspiegel, Hypozoospermie und Gonadenhypoplasie zusammenhängen, müßte durch eine quantitative Erfassung in Form von histometrischen Untersuchungen und Nachweis der Rezeptoren abgeklärt werden.
Denkbar ist eine negative Beeinflussung der Spermatogenese durch die geringe Testosteronkonzentration.
Diese kann durch eine geringe Anzahl von Rezeptoren, durch mangelhafte Ansprechbarkeit der Rezeptoren für LH oder durch eine niedrige Syntheserate verursacht sein.
Eine Testosteronunempfindlichkeit liegt offenbar am Hypothalamus vor.

6. Zusammenfassung

Die dysgammaglobulinämischen Hähne der UM B19- Linie zeigen eine reduzierte Fertilität oder sind infertil.
Künstliche Besamung konnte die Befruchtungsrate erhöhen, jedoch nicht normalisieren.
Die Hähne zeigen ein unterdrücktes, zum Teil auch fehlendes Paarungsverhalten. Es liegen hypoplastische Hoden vor; die Spermauntersuchung ergab eine geringe Spermienkonzentration.
Aus der Untersuchung der Hormonspiegel geht hervor, daß reduzierte Serum-Testosteron Konzentrationen vorliegen, während die Serum- LH Spiegel normal erscheinen.
Die Tatsache, daß durch Injektion von synthetischem LHRH die Testosteron- und somit auch die LH-Freisetzung stimuliert werden kann, in Zusammenhang mit der im Normbereich liegenden LH-Konzentration in unbehandelten Hähnen, deutet auf ein intaktes hypothalamo-hypophysäres feedback-System hin.
Da das Paarungs-, insbesondere das Kopulationsverhalten testosteronabhängig ist, scheint die Rückantwort des Hypothalamus auf Testosteron gestört zu sein.
Es besteht die Möglichkeit, daß die reduzierte Testosteronkonzentration die Ursache der Hypozoospermie ist.
Ob die niedrigen Testosteron-Spiegel auf eine reduzierte Anzahl von Rezeptoren, eine herabgesetzte Reaktion auf LH oder eine eingeschränkte Testosteronsynthese zurückzuführen sind muß noch abgeklärt werden.

7. Summary

Investigation on fertility in dysgammaglobulinaemic males of the UM B19 chicken line.

Dysgammaglobulinaemic males of the UM B19- chicken line show low fertility or are infertile.
Artificial insemination increased, but failed to normalise levels of fertilisation.
These males display reduced or absent mating behaviour.
The testis size is reduced; sperm evaluation shows low sperm counts.
Examination of hormone levels revealed low concentrations of serum testosterone, while LH levels are within a normal range.
The fact that testosterone and thus LH can be stimulated by injections of synthetic LHRH as well as the LH concentrations in untreated males implicate an unimpaired hypothalamo-hypophyseal feedback system.
As mating behaviour, especially copulatory behaviour is testosterone-dependent, it seems that the hypothalamus' response to testosterone is inhibited.
It is possible, that the reduced testosterone synthesis is the cause of the hypozoospermia.
Whether the low levels of testosterone are due to a reduced number of receptors, a decreased responsivenes to LH or a decreased testosterone synthesis remains to be resolved.

8. Literaturverzeichnis

1. Andrew, R.J., 1966
Precocious adult behaviour in the young chick.
Anim. Behav., 14, 485

2. Balnave, D., 1969
The effects of certain gonadal hormones on the content and composition of lipids and liver of immature male chickens.
Comp. Biochem. Physiol., 28, 709

3. Barfield, R.J., 1969
Activation of copulatory behaviour by androgen implanted into the preoptic area of the male fowl.
Horm. Behav., 1, 37

4. Beer, C.G., 1973
In: Avian physiology (Ed: P.D. Sturkie), Vol. 3, Springer Verlag New York, Heidelberg, Berlin, p. 344

5. Blivaiss, B.B. 1947
Interrelationships of thyroid and gonad in the development of plumage and other sex characters in Brown Leghorn roosters.
Physiol. Zool., 20, 67

6. Bonney, R.C. and T.J. Cunningham, 1975
The sensitizing effect of oestradiol on the response of the anterior pituitary gland of the domestic fowl to luteinizing hormone releasing hormone in vitro and in vivo.
J. Endocrinol, 67, 359

7. Bonney, R.C. and F.J. Cunningham, 1977
Effect of ionic environment on the release of LH from chicken anterior pituitary cells.
Mol. Cell. Endocrinol., 7, 245

8. Bons, N., B. Kerdelhuē et T. Assenmacher, 1978 a
Mise en évidence d' un deuxième système neurosecrétaire à LHRH dans l' hypothalamus du canard.
C.R. Acad. Sci. (Paris), 287, 145

9. Bons, N. Kerdelhuē and T. Assenmacher, 1978 b
Immunocytochemical identification of an LHRH producing system originating in the preoptic nucleus of the duck.
Cell. Tissue Res., 188, 99

10. Boone, M.A. and B.L. Hughes, 1970
Contamination of semen and it's effects on avian fertility.
Poultry Sci., 49, 407

11. Brantas, G.C., H.G. Dennert and A.L. Dennert Distelbrink, 1972
The influence of the number of cocks on the conception rate among White Leghorns.
Arch. Geflügel K., 36, 16

12. Brown, J.E. and G.C. Harris jr., 1963
The influence of glycerol equilibraton time on the metabolism, motility and fertility of frozen chicken spermatozoa.
Poultry Sci., 42, 377

13. Budras, K.D. und D. Berens von Rautenfeld, 1977
Lymphbildung und Erektion des lymphatischen Kapulationsschwellkörpers beim Hahn (Gallus domesticus).
Verh. Anat. Ges., 72, 565

14. Calas, A., B. Kerdelhuē, I. Assenmacher et M. Justisz, 1973
Les axones à LH-RH d' éminence mediane. Mise en évidence chez le canard par une technique immunocytochimique.
C.R. Acad. Sci. (Paris), 277, 2765

15. Callow, R.K. and A.S. Parkes, 1935
Growth and maintenance of the fowl's comb by administration of androsterone.
Biochem. J., 29, 1414

16. Christensen, A.K. and N.R. Mason, 1965
Comparative ability of seminiferous tubules and interstitial tissue of rat testes to synthesize androgens from progesterone - 4 - in vitro.
Endocrinology, 76, 646

17. Clayton, C.J. and G.E. Hoffmann, 1979
Immunochemical evidence for anti LHRH and anti ACTH activity in the "F" antiserum.
Am. J. Anat., 155, 139

18. Connel, G.M., C.J. Connel and K.B. Eik Nes, 1966
Testosterone synthesis by two-day-old chick testis in vitro.
Gen. Comp. Endocvinol., 7, 155

19. Cooper, D.M. and J.G. Rowell, 1958
Relations between fertility, embryonic survival and some semen characteristics in the chicken.
Poultry Sci., 37, 699

20. Crawford, W.C. and B. Glick, 1975
The function of the preoptic, mammilaris lateralis and ruber nuclei in normal and sexually inactive male chickens.
Physiol. Behav., 15, 171

21. Culbert, J., P.J. Sharp and J.W. Wells, 1977
Concentrations of androstenedione, testosterone and LH in the blood before and after onset of spermatogenesis in the cockerel.
J. Reprod. Fertil., 51, 153

22. Das, B.C. and A.V. Nalbandov, 1955
Responses of ovaries of immature chickens to avian and mammalian gonadotropins
Endocrinology, 57, 705

23. Davies, D.T. and R.J. Bicknell, 1976
The effect of testosterone on the responsiveness of the quail's pituitary to luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) during photoperiodically induced testicular growth.
Gen. Comp. Endocrinol., 30, 487

24. Davies, D.T. and J. Collins, 1979
Possible priming effect of luteinizing hormone releasing hormone on the anterior pituitary gland in the Japanese quail and the stimulation of follicle stimulating hormone.
J. Endocrinol, 82, 71

25. Driot, F.J.M., M. de Reviers and J. Williams, 1979
Plasma testosterone levels in intact and hemicastrated growing cockerels.
J. Endocrinol, 81, 169

26. Dym, M. and D.W. Fawcett, 1970
The blood-testis barrier in the rat and the physiological compartmentation of the seminiferous epithelium.
Biol. Reprod. 3, 308

27. Fiedler, H., U. Lösch and K. Hála, 1980
Establishment of a B- compatible chicken line with normogammaglobulinaemia and dysgammaglobulinaemia (IgM/IgG).
Folia biologica (Praha), 26, 17

28. Follet, B.K., C.G. Scanes and F.J. Cunningham, 1972
A radioimmunoassay for avian luteinizing hormone
J. Endocrinol., 52, 359

29. Furr, B.J.A. and F.J. Cunningham, 1970
The biological assay of chicken pituitary gonadotrophins
Br. Poult. Sci., 11, 7

30. Galli, F.E., O. Irousta and G.F. Wassermann, 1973
Androgen production by testes of Gallus domesticus during postembryonic development.
Gen. Comp. Endocrinol., 21. 262

31. Gardner, J.E. and A.E. Fisher, 1968
Induction of mating behaviour in male chicks following preoptic implantation of androgen.
Physiol. Behav., 3, 709

32. Garnier, D.H. and J. Attal, 1970
Variations de la testosterone du plasma testiculaire et des cellules interstitielles chez le Canard Pekin au cours du cycle annuel.
Compt. Rend. Acad. Sci. Paris, 270, 2472

33. Garnier, D.H., 1971
Variations de la testosterone du peripherique chez le Canard Pekin au cours du cycle annuel.
Compt. Rend. Series D., 272, 1665

34. Gloyna, R.E. and J.D. Wilson, 1969
A comparative study of the conversion of testosterone to 17 - Hydroxy - 5 androstan 3- one (Dihydrotestosterone) by prostate and epididymis.
J. Clin. Endocrin Metab., 29, 970

35. Glick, B., 1957
Experimental modification of the growth of the bursa of Fabricius.
Poultry Sci., 36, 18

36. Glick, B., 1961
The reproductive performance of birds hatched from eggs dipped in male hormone solutions.
Poultry Sci., 40, 1408

37. Glick, B., 1966
Growth, livability, immune response, and reproductive efficiency of birds hatches from eggs dipped in solutions containing testosterone propionate.
13th World's Poultry Congress, (Kiev, Russia) 303

38. Godden, P.M.M., M.R. Luck and C.G. Scanes, 1977
The effect of luteinizing hormone releasing hormone and steroids on the release of LH and FSH from incubated turkey pituitary cells.
Acta Endocrinol., 85, 713

39. Gogan, F., 1968
Hypothalamic sensitivity to testosterone in the duck.
Gen. Comp. Endocrinol., 11, 316

40. Graber, J.W., A.I. Frenkel and A.V. Nalbandov, 1967
Hypothalamic center influencing the release of LH in the cockerel
Gen. Comp. Endocrinol., 9, 187

41. Grimminger, P., 1976
Protein metabolism
In:Avian physiology, vol. 3 (Ed.: P.D. Sturkie), Springer Verlag, New York, Heidelberg, Berlin, p. 248

42. Guichard, A., L. Cedard et K. Haffen 1973 a
Aspect comparatif de la synthèse de stéroides sexuels par les gonades embryonnaires de poulet à differents stades du développement.
Gen. Comp. Endocrinol., 20, 16

43. Guichard, A.L., L. Cedard et K. Haffen et D. Scheib, 1973 b
Metabolisme de la pregnolone et de la progesterone radioactive par les gonades embryonnaires de la caille (Coturnix coturnix japonica) en culture organotypiques.
Gen. Comp. Endocrinol., 21, 478

44. Haynes, R.L. and B. Glick, 1974
Hypothalamic control of sexual behaviour in the chicken
Poultry Sci. 53, 27

45. Hattori, M.A., K. Wakabayashi and M. Nosaki, 1980
Difference of Japanese quail LH-RF from mammalian LH-RF revealed by biochemical and immunochemical studies.
Gen. Comp. Endocrinol., 41, 217

46. Herrick, R.B., W.H. Mc Gibben and W.H. Shan, 1962
Gonadotropic activity of chicken pituitary glands.
Endocrinology, 71, 487

47. Hoffmann, G.E, K. Melnyk, T. Hayes, C. Bennet- Clarke and E. Fowler, 1978
Immunocytology of LHRH neurons in brain- endocrine interaction.
In: Brain- endocrine interaction. 3. Neural hormones and reproduction. (Eds.: D. Scott, G.P. Kozlowski, and A. Weindl), S. Karger, Basel, p. 67

48. Jackson, G.L., 1971
Comparison of rat and chicken luteinising hormone releasing hormone.
Endocrinology, 89, 1460

49. Kannanheril, J.V. and Domm, L.V., 1968
The influence of gonadectomy on sexual characters in the Japanese quail.
J. Morphol., 126, 395

50. Kar, A.B., 1947
In: Physiology and biochemistry of the domestic fowl, Vol.3 (Eds.: D.J. Bell, B.M. Freemann), Academic Press, London, New York, p. 1483

51. King, J.A. and R.P. Millar, 1982
Structure of chicken hypothalamic luteinizing hormone releasing hormone
J. Biol. Chem., 257, 10729

52. Kumaran, J.D.S. and E.W. Turner, 1949 a
The normal development of the testis in the White Plynmouth Rock.
Poultry Sci., 28, 511

53. Kumaran, J.D.S. and E.W. Turner, 1949 b
The endocrinology of spermatogenesis in birds. 1. Effect of estrogen and androgen.
Poultry Sci., 28, 593

54. Kumaran, J.D.S. and E.W. Turner 1949 c
The endocrinology of spermatogenesis in birds. 2. The effect of androgens.
poultry Sci., 28, 739

55. Lacy, D. and A.J. Pettitt, 1970
Sites of hormone production in the mammalian testis and their significance in the control of male fertility.
Br. med. Bull., 26, 87

56. Lake, P.E., 1956
3rd. Int. Congr. Anim.Reprod. A.I., Cambridge, 104-106
In: Physiology and biochemistry of the domestic fowl. Vol 3. (Eds.: D.J. Bell, B.M. Freeman), Academic Press, London, New York, p. 1421

57. Lake, P.E., W. Smith and D. Young, 1968
The ultrastructure of the ejaculated fowl spermatozoon.
J. Quart. exp. Physiol., 356

58. Lake, P.E., 1971
The male in reproduction
In: Physiology and biochemistry of the domestic fowl, Vol.3 (Eds.: D.J. Bell, B.M. Freeman), Academic Press, London, New York, p. 1411

59. Lake, P.E., 1974
Die künstliche Besamung beim Geflügel.
In: Die künstliche Besamung und Eitransplantation bei Tier und Mensch. Bd.2. (Ed.: S.K. Paufler), Verlag M&H Schaper, p. 239

60. Lofts, B. and H.A. Bern, 1972
The functional morphology of steroidogenic tissues.
In: Steroids in non- mammalian vertebrates (Ed.: D.R. Idler), Academic Press New York, p. 37

61. Lofts, B. and R.K. Murton, 1973
In: Avian physiology (Ed: P.D. Sturkie), Vol. 3, Springer Verlag, New York, Heidelberg, Berlin, p. 340

62. Luck, M.R. and C.G. Scanes, 1980
Ionic and endocrine factors influencing the secretion of luteinizing hormone by chicken anterior pituitary cells in vitro.
Gen. Comp. Endocrinol., 41, 260

63. Marini, P.J. and B.L. Goodman, 1969
Semen characteristics as influenced by divergent growth rate in chickens.
Poultry Sci., 48, 859

64. Marvan, F., O. Rob und E. Janeckovã, 1981
Klassifikation morphologischer Spermienanomalien bei Gantern.
Zuchthyg., 16, 178

65. Mashali, M.M. and B. Glick, 1979
Comparison of androgen levels in normal males (Gallus domesticus) and in males made sexually inactive by embryonic exposure to testosterone propionate.
Gen. comp. endocrinol., 38, 105

66. Mc. Meill, T.H., G.P. Kozlowski, J.H. Zimmermann and E.A. Zimmermann, 1976
Neurosecretory pathways in the mallard duck (Anas platyrhynchos) brain: localisation by aldehyde fuchsin and immunperoxydase technique for neuro-physin (NP) and gonadotrophin releasing hormone GnRH.
Endocrinology, 99, 1323

67. Meyer, D.C., 1973
Testosterone concentration in the male chick brain; an autoradiographic survey.
Science, 180, 1381

68. Morell, J.I., D.B. Kelley and D.W. Pfaff, 1974
Sex steroid binding in the brains of vertebrates.
In: Brain- endocrine interactions 2, (Ed.: S. Karger), Basel, p. 230

69. Nakajo, S. and K. Imai, 1956
Investigation on chick assay method for avian gonadotropins.
Endocr. jap., 3, 197

70. Nakamura, T. and Y. Tanabe, 1972
In vitro steroidogenesis by testes of the chicken, (Gallus domesticus).
Gen. Comp. Endocrinol., 19, 432

71. Nalbandov, A.V., 1945
A study of the effect of prolactin on broodiness and on cock testes.
Endocrinology, 36, 251

72. Neumann, F. und B. Schenck, 1977
Endokrinpharmakologie (Pharmakotherapie mit Hormonen)
In: Pharmakologie und Toxikologie (Eds: W. Forth, D. Henschler), Bibliographisches Institut, B.J. Wissenschaftsverlag, Mannheim, Wien, Zürich, p. 310

73. Nicholls, T.J. and G.P. Graham, 1972
Observations on the ultrastructure and differentiation of Leydig cells in the testis of the Japanese quail, Coturnix japonica.
Biol Reprod., 6, 179

74. Nishiyama, H. 1954
10th Wld's Poultry Congr. Edinburgh, 88
In: Physiology and biochemistry of the domestic fowl. Vol.3 (Eds: D.J. Bell, B.M. Freeman), Academic Press, London, New York, p. 1483

75. Nishiyama, H., 1955
Studies on the accessory reproductive organs in the cock.
J. Fac. Agric. Kjushu Univ. 10, 277

76. Nishiyama, N.K. Ogawa and Y. Nakanishi, 1968
Studies on the artificial insemination of the fowl. 2
Effects of dilution of semen and insemination interval on the fertility of pullets.
Mem. Fac. Agri., Kagoshima Univ., 6, 135

77. Osman, D.I., H. Ekwall and L. Ploen, 1980
Specialised cell contacts and the blood- testis barrier in the seminiferous tubules of the domestic fowl, Gallus domisticus.
Int. J. of Androl., 3, 553

78. Ottinger, M.A., 1983
Short term variation in serum luteinizing hormone and testosterone in the male Japanese quail.
Poultry Sci., 62, 908

79. Parker, J.E., F. Mc Kenzie and H.L. Kempster, 1942,
Fertility in the male domestic fowl.
Mo. Agri. Exp. Sta. Res. Bull., 347

80. Parker, J.E., 1949
In: Avian physiology (Ed: P.D. Sturkie), Vol. 3, Springer Verlag, New York, Heidelberg, Berlin, p. 335

81. Rautenfeld, D.B. von, K.D. Budras und R. Gassman, 1978
Transepithelialer antikörperhaltiger Lymphfluss aus dem Lymphfaltenschwellkörper zum Ejakulat des Hahnes (Gallus domesticus).
Verh. Anat. Ges., 72, 569

82. Reviers de Mauny, M., 1968
In: Physiology and biochemistry of the domestic fowl. Vol.3 (Eds: D.J. Bell, B.M. Freeman), Adademic Press. London, New York, p. 1417

83. Saeki, Y., 1960
Crooked-neck-spermatozoa in relation to low fertility in artificial insemination of fowl.
Poultry Sci., 39, 1354

84. Scanes, C.G. and B.K. Follet, 1973
The half- life of luteinising hormone in the circulation of the domestic fowl and Japanese quail.
J. Endocrinol., 58, 125

85. Schanbacher, B.D., Games, W.R. and N.L. Van Demark, 1974
Diurnal rhythm in serum testosterone levels and thymidine uptake by testes in the domestic fowl.
Journal of Animal Science, 38, 1245

86. Schindler, H. and A. Nevo, 1962
Reversible inactivation and agglutination of fowl und bull spermatozoa under anaerobic conditions.
J. Reprod. Fer., 4, 251

87. Schrocksnadel, H.A. Bator and J. Frick, 1971
Plasma testosterone levels in cocks and hens.
Steroids, 18, 359

88. Schummer, A., 1973
Männliche Geschlechtsorgane
In: Anatomie der Hausvögel, Bd. 5 (Eds: R. Nickel, A. Schummer, E. Seiferle) Verl. Paul Parey, Berlin, Hamburg, p. 110

89. Shanbacher, B.D., W.R. Gomes and N.L. Van Demark, 1974
Diurnal rhythm in serum testosterone levels and thymidine uptake by testes in the domestic fowl.
J. Anim. Sci., 38, 1245

90. Sharp, P.J., 1983
Hypothalamic control of gonadotrophin secretion in birds.
In: Recent progress in non- mammalian brain research (Eds: G. Nistico, L. Bolis), CRC Press, p. 136 u. 142

91. Soller, M., H. Schindler and S.B. Bornstein, 1965
Semen characteristics, failure of insemination and fertility in Cornish and White Rock males.
Poultry Sci., 44, 424

92. Siegel, H.S., 1964
Nitrogen metabolism in cockerels treated with 17 - methyl - 17 - Hydroxy-androsta - 3 - one (Methandrostenolone).
Gen. Comp. Endocrinol., 4, 132

93. Steinberger, E. and G.E. Duckett, 1965
Effect of estrogen or testosterone on initiation and maintenance of spermatogenesis in the rat.
Endocrinology, 76, 1184

94. Stetson, M.H., 1972
Feedback regulation of testicular function in Japanese quail: testosterone implants in the hypothalamus and adenohypophysis.
Gen. Comp. Endocrinol., 19, 37

95. Stocknell Hartree, A. and F.J. Cunningham, 1969
Purification of chicken pituitary FSH and LH.
J. Endocrinol., 43, 609

96. Sturkie, P.D., 1976
Reproduction in the male
In: Avian physiology, vol. 3 (Eds.: P.D. Sturkie), Springer Verlag, New York, Heidelberg, Berlin, p. 331

97. Takeda, A., 1969
In: Physiology and biochemistry of the domestic fowl (Ed.: D.J. Bell, B.M. Freeman), Academic Press, London, New York, P. 1417

98. Taylor, R.L. jr. and B. Glick, 1983
Pituitary and testicular activity in chickens after embryonic testosterone treatment.
Am. J. Physiol. 244, 66

99. Temple, S.A., 1974
Plasma testosterone titers during the annual reproductive cycle of starlings (Sturnus vulgaris)
Gen. Comp. Endocrinol., 22, 470

100 Tienhoven, A. van, 1970
Neurophysiological approach to photosexual relationships in birds.
Colloques internationaux du centre national de la recherche scientifique, Nr. 172, 259

101 Tingari, M.D., 1973
Histochemical localisation of 3 - and 17 - hydroxysteroid dehydrogenases in the male reproductive tract of the domestic fowl (Gallus domesticus).
Histochem. J., 5, 57

102 Tixier-Vidal, A.B. and B.K. Follet, 1973
In: Avian physiology (Ed.: P.D. Sturkie), Springer Verlag New York, Heidelberg, Berlin, p. 289

103 Wallenburg, J. und L. Ploen, 1982
Blut- Testis und Blut- Ovar Schranke. Ein immunmorphologischer Vergleich.
Anatomia, Histologia, Emryologia, 11, 377

104 Wickings, E.J., P. Zaidi, G. Brabant and E. Nieschlag, 1982
Stimulation of pituitary and testicular functions with LHRH agonist or pulsatile LHRH treatment in the Rhesus monkey during the non breeding season.
J. Reprod. Fert., 63, 129

105 Wilson, J.A. and Glick, 1970
Ontogeny of mating behaviour in the chicken.
Am. J. Physiol., 218, 951

106 Woods, J.E., Domm, L.V., 1966
A histochemical identification of the androgen producing cells in the gonads of the domestic fowl and albino rat.
Gen. Comp. Endocrinol., 7, 559

107 Yokoyama, K., 1977
Hypothalamic and hormonal control of photoperiodically induced vernal function in the white crowned sparrow, Zonotrichia leucophrys gambelina. 2. The effects of the hypothalamic implantation of testosterone propionate.
Cell. Tissue Res., 179, 19

108 Zigmond, R.E., J.M. Stern and B.S. Mc Ewen, 1972
Retention of radioactivity in cell nuclei in the hypothalamus of the ring dove after injection of H- testosterone.
Gen. Comp. Endocrinol., 18, 450

Herrn Prof. Dr. U. Lösch danke ich für die Überlassung des Themas und seine freundliche Hilfe bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Für den zur Verfügung gestellten Arbeitsplatz danke ich den Herren Prof. Dr. M. Merkenschlager und Prof. Dr. H. Zucker.

Herrn Prof. Dr. W. Leidl danke ich für den zur Durchführung der Spermauntersuchung überlassenen Arbeitsplatz, Frau R. Haitchi für ihre freundliche Unterstützung und den Herren Prof. Dr. J. Kösters und Dr. F. Grimm für die Durchführung der Laparatomien.

Mein herzlicher Dank gilt allen, die mich bei der Durchführung meiner Untersuchungen mit Rat, Tat und Hilfe unterstützten.

Lebenslauf

11.05.1959	Geboren in Wuppertal/Barmen als Tochter des Dr.jur. Konrad Hannesschläger und seiner Ehefrau Dorothee, geb. Rath
1959 - 1961	Fontainebleau/ Frankreich
1961 - 1963	Paris
1963 - 1964	Neustadt Krs. Marburg
1964 - 1965	Bonn
1965	Volksschule Bonn/Ippendorf
1965 - 1967	St. Georges School Hannover Square, London
1967 - 1968	Finkenhof-Gemeinschaftsschule, Bonn
1968 - 1971	Hardtberg-Gymnasium Bonn
1971 - 1974	Internationale SHAPE-Schule, Casteau, Belgien
1974 - 1975	Hardtberg-Gymnasium, Bonn
1975 - 1976	The International School of Geneva (ISG), Genf
15.07. 1976	Allgemeine Hochschulreife, International Baccalaureate
1976 - 1977	Ecole des Beaux Arts, Arts Department (ISG), Genf
1977 - 1982	Studium der Tiermedizin an der Universität München
30.11. 1982	Staatsexamen
22.08. 1983	Approbation
01.09.1983 - 29.02.1984	Teilzeitbeschäftigte wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie